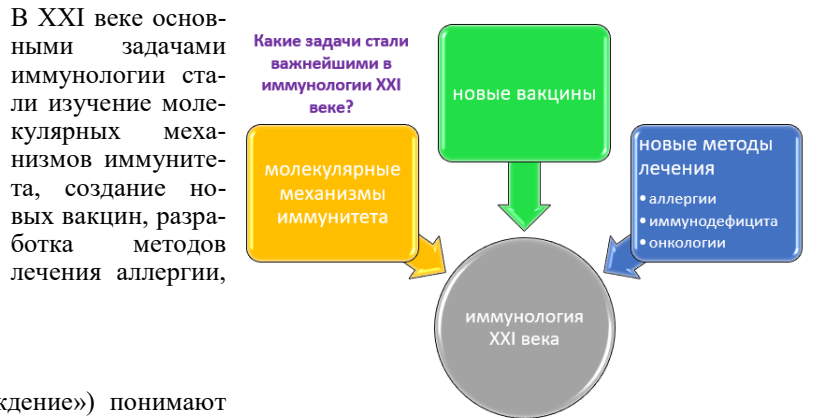


Причины доминирования иммунологии в современной медицине

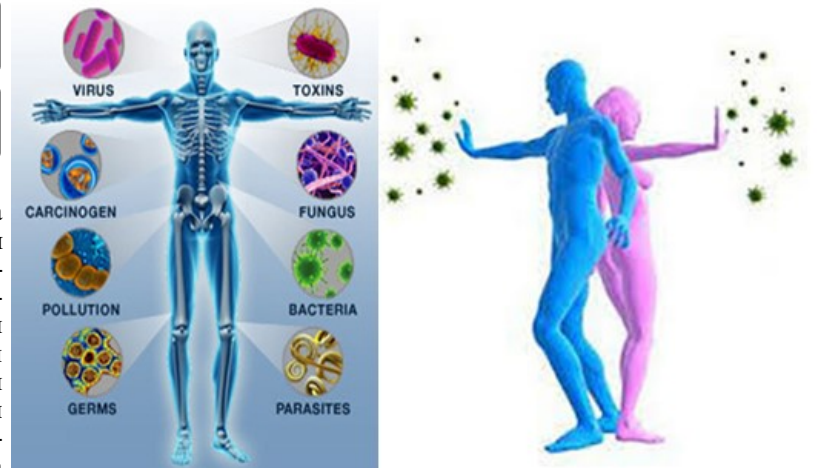


Иммунологические методы диагностики используются сегодня врачами всех специальностей, для современного человечества характерно значительное число больных аллергиями.



Понятие об иммунитете

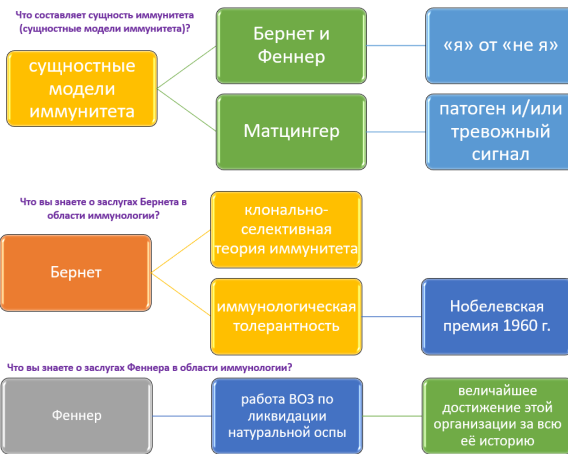
Под иммунитетом (от лат. immunitas «освобождение») понимают способность организма распознавать и удалять чужеродные вещества и клетки, включая микроорганизмы и опухолевые клетки.



(<https://ineccabelova.files.wordpress.com/2015/10/imunitet.jpg>)

Первая сущностная модель иммунитета была сформирована в середине 20 века Бернетом (автором клонально-селективной теории иммунитета и первооткрывателем явления иммунологической толерантности, за которую получил Нобелевскую премию 1960 года) и Феннером (руководившим работой ВОЗ по ликвидации натуральной оспы, считающейся величайшим достижением этой организации за всю её историю). Они сформулировали понятие иммунитета как способности организма отличить «свое» от «чужого» («я» от «не я»). Эта образная формулировка широко используется до сих пор, хотя не может объяснить всех явлений иммунитета, тем более по мере накопления всё новых научных данных в этой области.

В конце двадцатого века были сформулированы новые сущностные модели иммунитета с учётом накопившихся новых знаний, среди которых наибольший отклик получила модель опасности, сформулированная Полли Матцингер (автора термина «профессиональные анти-



генпрезентирующие клетки») в 1994 году. Эта модель предполагает, что иммунная система идентифицирует угрозы для иницирования иммунного ответа на основе присутствия патогенов и/или тревожных сигна-

лов от клеток, находящихся в состоянии стресса.

Пониманию сущности иммунитета помогает и рассмотрение его как механизма поддержания антигенного гомеостаза внутренней среды (под антигеном понимают любое вещество, которое организм рассматривает как чужеродное и формирует против него иммунный ответ с целью его удаления).

Иммунитет можно понимать как механизм поддержания антигенного гомеостаза внутренней среды; а что в этой связи понимают под антигеном?

ИММУНИТЕТ

механизм поддержания антигенного гомеостаза внутренней среды

- антиген = любое вещество, которое организм рассматривает как чужеродное и формирует против него иммунный ответ



Разделы современной иммунологии

Прежде всего следует обратить внимание на разделение иммунологии на две части, в зависимости от того, о каком антигене идет речь: защитные механизмы, направленные на распознавание и элиминацию микробного антигена изучает инфекционная

иммунология, всякого иного – неинфекционная иммунология.

способы (механизмы, уровни)	до	ментальная поведенческая защита
		покровные ткани
	на границе	микробицидные экзосекреты
		сосудистые реакции, вызывающие локальные отёк
	во внутренней среде	доиммунный фагоцитоз
		белки острой фазы
		лимфоцитарный иммунитет

Способы (механизмы, уровни) защиты человеческого организма от инфекций

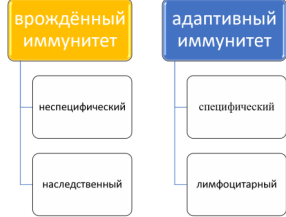
Защита человеческого организма от инфекционного начала (микроорганизма) осуществляется на трех уровнях (тремя группами способов или механизмов): до попадания инфекционного начала во внутреннюю среду (ментальная поведенческая защита, покровные ткани), на границе с внутренней средой (микробицидные экзосекреты, сосудистые реакции, вызывающие локальные отёк), во внутрен-

ней среде (доиммунный фагоцитоз, белки острой фазы, лимфоцитарный иммунитет).

Механизмы защиты внутренней среды человеческого организма, реализуемые в ней самой

Механизмы защиты внутренней среды человеческого организма формируются различными видами иммунитета.

Основная классификация иммунитета выделяет два вида последнего – какие именно?



Основная классификация иммунитета выделяет два вида последнего: врождённый (неспецифический, наследственный) и адаптивный (специфический, ранее его называли также приобретённым, но в настоящее время этот термин в таком его значении устарел).

Врождённый иммунитет осуществляется большей частью клетками миелоидного ряда, не имеет строгой специфичности к антигенам, не характеризуется клональным (т.е. развившимся в результате активации

одной клетки) ответом, не обладает памятью о первичном контакте с чужеродным агентом.

врождённый иммунитет

Перечислите отличительные характеристики врождённого иммунитета

- клетки миелоидного ряда
- нет строгой специфичности к антигену
- не клональный
- нет иммунологической памяти

адаптивный иммунитет

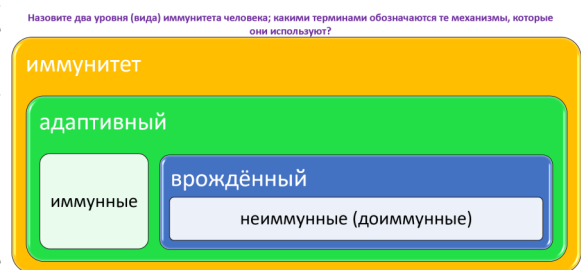
Перечислите отличительные характеристики адаптивного иммунитета

- лимфоциты
- специфичен к антигену
- клональный
- иммунологическая память
- возможна аутоиммунная реакция

Адаптивный иммунитет осуществляется с ключевым участием лимфоцитов (поэтому он называется ещё лимфоцитарным иммунитетом), этот иммунитет специфичен по отношению к антигену, характеризуется клональным ответом, в ходе его формируется иммунологическая память (т.е. память о первичном контакте с антигеном, обуславливающая более быстрый и более сильный ответ на повторный контакт с этим же антигеном). Кроме того, адаптивный иммунитет может быть

направлен на собственные органы или ткани организма (аутоиммунная реакция).

Эти два вида иммунитета тесно связаны друг с другом, и в настоящее время их следует понимать не как два разных вида, а как два уровня, второй из которых (адаптивный иммунитет), базируется на первом (врождённом иммунитете), используя его механизмы. Последние, если они работают



Нобелевская премия 2011 года

Офман и Бётлер
• «за работы по изучению активации врождённого иммунитета»

Стейнман
• «за открытие дендритных клеток и изучение их значения для адаптивного иммунитета»

лишь в рамках врождённого иммунитета, называются доиммунными (или неиммунными), а если активируются лимфоцитами в ходе адаптивного иммунитета, – соответственно, иммунными. Именно такое понимание видов иммунитета развито в исследованиях Офмана и Бётлера, которым «за работы по изучению активации врождённого иммунитета» вкуче с со Стейнманом «за открытие дендритных клеток и изучение их значения для адаптивного иммунитета» была вручена Нобелевская премия 2011 года.

С учётом сказанного, механизмы защиты внутренней среды человеческого организма, реализуемые в ней самой, классифицируются на доиммунные, т.е. механизмы врождённого иммунитета (клеточные – фагоциты, другие лейкоциты общевоспалительного назначения, НК-клетки; гуморальные – комплемент, лизоцим, белки острой фазы, пептиды-антибиотики, другие микробицидные вещества внутренней среды) и иммунные, механизмы адаптивного иммунитета, обуславливающие иммунологическую реактивность, т.е. механизмы защиты, осуществляемые лимфоцитами.

механизмы защиты внутренней среды человеческого организма, реализуемые в ней самой



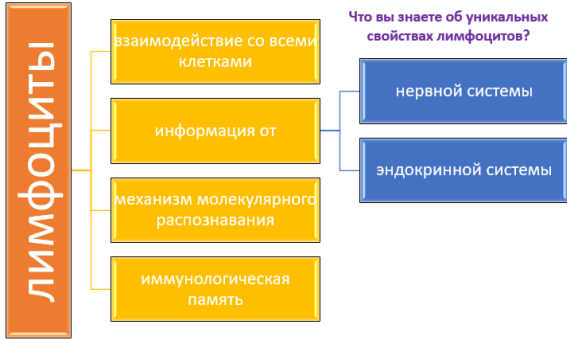
На какие две группы классифицируются механизмы защиты внутренней среды человеческого организма, реализующиеся в ней самой?

доиммунные = механизмы врождённого иммунитета

- клеточные
- фагоциты
- лейкоциты воспаления
- NK-клетки
- гуморальные
- комплемент
- лизоцим
- белки острой фазы,
- пептиды-антибиотики
- другие микробицидные вещества внутренней среды

Уникальные свойства лимфоцитов

Лимфоцит – уникальная клетка макроорганизма, которая отличается от всех других клеток четырьмя основными свойствами: лимфоциты могут взаимодействовать со всеми клетками макроорганизма, воспринимают информацию от нервной и эндокринной систем, обладают механизмом молекулярного распознавания, могут «запоминать» антиген, обуславливая явление иммунологической памяти.



Лимфоцит среди других клеток крови
(<https://i.ytimg.com/vi/ulxwCn1rfEA/maxresdefault.jpg>)

Молекулярное распознавание

Молекулярное распознавание – уникальное свойство лимфоцитов распознавать антиген: этот про-



цесс происходит на молекулярном уровне и осуществляется антиген-распознающим рецептором, в результате чего клетка, чей антиген-распознающий рецептор связался с антигеном даёт начало клону активированных лимфоцитов, запускающих процессы иммунного ответа (в этом заключается клональный принцип иммунологического

реагирования).

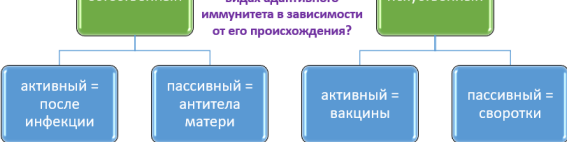
До рубежа XX/XXI веков считалось, что каждый лимфоцит имеет антигенраспознающий рецептор лишь одной специфичности, т.е. для взаимодействия с каждым конкретным антигеном существует отдельный лимфоцит. Однако, количество всевозможных антигенов окружающего нас мира явно превышает число лимфоцитов в организме человека. Это противоречие разрешилось с началом XXI века, когда выяснилось, что антигенпрезентирующий рецептор лимфоцита живой и гибкий, что даёт ему возможность «подстраиваться» под антиген, т.е. одна клетка может реагировать с целой группой родственных антигенов. Это открытие объяснило возможность нашего иммунитета распознавать близкое к бесконечности многообразие веществ окружающего нас мира.



Виды адаптивного иммунитета

Адаптивный иммунитет формируется после рождения под влиянием антигенов, с которыми контактирует организм каждого отдельного человека. А так как условия жизни у разных людей разные, то и список антигенов, с которыми они контактируют, может отличаться. Другими словами, адаптивный иммунитет у каждого из нас имеет свои индивидуальные особенности.

Кроме того, формироваться он может естественным образом или искусственно создаваться путём введения вакцин, содержащих антиген, или сывороток, содержащих антитела к антигену. При этом, если в организм человека попадает антиген и иммунитет формирует на него иммунный ответ, такой иммунитет называется активным. Если же в организм вводятся готовые антитела, то иммунитет, которые они обуславливают своим присутствием, называется пассивным.

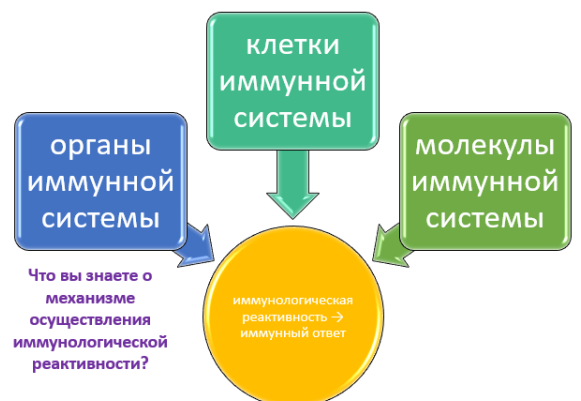


На этих особенностях базируется классификация адаптивного иммунитета в зависимости от его происхождения, согласно которой он подразделяется на естественный и искусственный. Активный естественный иммунитет формируется в результате перенесённой инфекции, пассивный естественный иммунитет формируется за счёт материнских антител, присутствующих в организме ребёнка некоторое

время после рождения. Активный искусственный иммунитет формируется в результате вакцинации, пассивный искусственный иммунитет формируется в результате введения лечебно-профилактических сывороток.

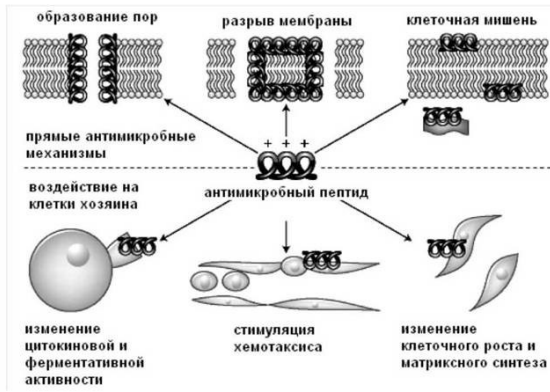
Механизм осуществления иммунологической реактивности

Иммунологическая реактивность, в результате которой формируется иммунитет на конкретный антиген, осуществляется путём взаимодействия органов, клеток и молекул иммунной системы в ходе иммунного ответа на этот антиген.



Эндогенные пептиды-антибиотики

Антимикробные пептиды представляют собой молекулы, состоящие из 12–50 аминокислотных остатков, обладающие антимикробной активностью. Такие пептиды вырабатываются клетками не только животных, но и растительных организмов и являются ключевым ком-



https://medicine.disseng.com/files/uch_group31/uch_pgroup24/uch_uch6861/image/image003.jpg

что также приводит микроорганизм к гибели.

Кроме бактерий, в том числе, обладающих антибиотикорезистентностью, antimicrobные пептиды действуют на грибы, простейшие и вирусы.

Роль antimicrobных пептидов в иммунитете не исчерпывается их прямым antimicrobным действием. Они являются мощными хемоаттрактантами антигенпрезентирующих клеток, рекрутируя их к месту нахождения микроорганизмов, а также тучных клеток, о роли которых в иммунном ответе будет сказано ниже.

У человека, как и у других млекопитающих, antimicrobные пептиды представлены дефензинами (англ. defensin, от англ. defense «защита»), катионными пептидами иммунной системы, используемыми, в частности, фагоцитами для уничтожения поглощённых бактерий.

Что вы знаете о дефенинах?

антимикробные пептиды млекопитающих = дефензины

<p>альфа-</p> <ul style="list-style-type: none"> нейтрофилы клетки Панета 	<p>бета-</p> <ul style="list-style-type: none"> лейкоциты эпителиальные клетки 	<p>тета-</p> <ul style="list-style-type: none"> у человека не продуцируются (гены есть, но не экспрессируются)
--	---	--

Дефензины млекопитающих классифицируются на три группы: альфа-дефензины, бета-дефензины и тета-дефензины. Альфа-дефензины обнаруживаются в основном в нейтрофилах и клетках Панета (это клетки, обеспечивающие местную антибактериальную защиту в тонком кишечнике). Бета-дефензины обнаруживаются в лейкоцитах и эпителиальных клетках.

Тета-дефензины у человека не обнаруживаются. Но в организме других приматов они есть.

Человеческий геном содержит шесть генов тета-дефензинов, однако стоп-кодон, расположенный слишком близко к началу сигнальной последовательности, мешает их экспрессии. При искусственном «исправлении» этих псевдогенов, удалось произвести соответствующие пептиды, которые были названы ретроциклинами. Было показано, что ретроциклины способны противостоять вирусу иммунодефицита человека, вирусу простого герпеса, вирусу гриппа, и, возможно, другим вирусам, препятствуя их прониканию в клетку. Предположительно, предки современного человека потеряли способность производить тета-дефензины после расхождения их линии с орангутаном, и это могло сделать человека более восприимчивым к ВИЧ.

Интерес к antimicrobным пептидам в целом и к дефензимам в частности в последнее время значительно вырос, в том числе и в перспективе их возможного применения в химиотерапии инфекций, вызываемых антибиотикоустойчивыми бактериями.

Лизоцим

Лизоцим (от др.-греч. λύσις «развязывание, разложение») – антибактериальный агент, фермент класса гидролаз. Человеческий лизоцим является гликозидазой и содержится в слюне, слёзной жидкости, грудном молоке, секрете других слизистых оболочек и в крови.

Механизм действия лизоцима на микробные клетки осуществляется двумя путями. Ферментативный механизм связан с гидролизом пептидогликана клеточной стенки. Катионный – с разрушением цитоплазматической мембраны вследствие образования в ней пор аналогично действию дефензина.

Кроме антибактериального, лизоцим оказывает также противогрибковое и противовирусное действие, а в контексте поиска эффективных и нетоксичных средств для лечения и профилактики заболевания, вызванного SARS-CoV-2 в 2020 году выявлен иммуномодули-

понентом их защиты от микроорганизмов.

Поверхность бактерий имеет отрицательный заряд, катионные пептиды связываются с ней и формируют поры, что ведёт к гибели клетки вследствие осмотического лизиса. В дополнение к этому, antimicrobные пептиды как бы выстилают отрицательно заряженную мембрану бактерии образуя молекулярный ковёр. Когда вся поверхность бактерии занята пептидами, её мембрана начинает разрываться на куски.

Ещё один механизм действия antimicrobных пептидов заключается в том, что проникая в цитоплазму бактерии или другого паразита antimicrobные пептиды, будучи заряжены положительно, связываются с клеточными полианионами (такими как ДНК и РНК)

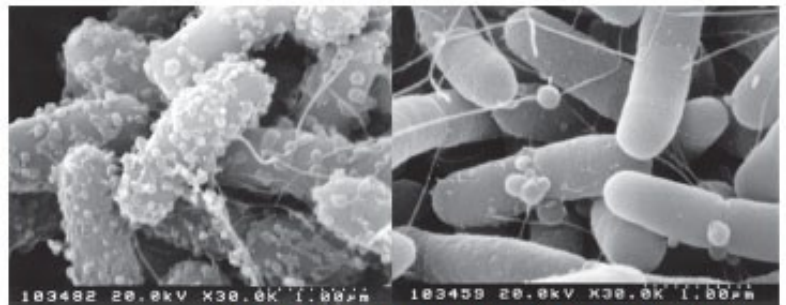
Что из себя представляют antimicrobные пептиды и какой механизм их antimicrobного действия?

катионы из 12-50 аминокислотных остатков

нарушение КС и ЦПМ

нарушение ДНК и РНК

хемоаттракция
• АПК и тучных клеток



Порообразующее действие дефензинов (микрофотография Suzie Fisher, Ethan Fry, Quynh Pham и Micah Tobin, 2009)

Что вы знаете о лизоциме?

<p>лизоцим</p> <p>фермент класса гидролаз</p> <p>у человека – гликозидаза</p>	<p>механизм antimicrobного действия</p> <p>ферментативный – КС</p> <p>катионный – ЦПМ</p>	<p>направленность действия</p> <p>бактерии</p> <p>грибки</p> <p>вирусы</p> <p>иммуномодулятор</p>
--	--	--

рующий эффект лизоцима.

Уровень слезного лизоцима является одним из биомаркеров иммунной компетентности слизистых оболочек и может предсказывать риск заражения инфекциями верхних дыхательных путей.

Бета-лизины



Бета-лизины представляют собой термостабильные белки сыворотки крови, синтезируемые преимущественно тромбоцитами и обладающими бактерицидным эффектом прежде всего на грамположительные бактерии в результате повреждения цитоплазматической мембраны последних.

Высвобождение бета-лизинов из клеток происходит в ряду стереотипных сдвигов в первую, неспецифическую фазу реакции организма на воздействие раздражителя любой природы, вызывающего нарушение гомеостаза. С этой точки зрения, бета-лизины рассматриваются как своеобразный индикатор нестабильности внутренней среды организма.

ма. Установлен также факт прямой зависимости повышения уровня бета-лизинов сыворотки крови от наличия и интенсивности воспалительного процесса в организме.

Фибронектин

Гликопротеин плазмы крови и тканевой жидкости. У всех позвоночных присутствуют два типа фибронектина: растворимый (является белковым компонентом плазмы крови, вырабатывается гепатоцитами) и нерастворимый (является основным компонентом внеклеточного матрикса, секретируется в первую очередь фибробластами как растворимый белковый димер, а затем собирается в нерастворимую матрицу в сложном клеточно-опосредованном процессе).

С одной стороны, фибронектин связывается с поверхностью бактерий и обуславливает их неспецифическое выведение из макроорганизма, с другой стороны, фибронектин может взаимодействовать с рецепторами адгезии и тем самым блокировать процесс адгезии бактерий к чувствительным клеткам.

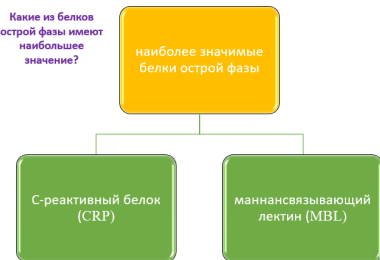


Белки острой фазы

Белками острой фазы называются белки, концентрация которых в плазме крови или увеличивается (так называемые «положительные белки острой фазы») или уменьшается («отрицательные белки острой фазы»), в силу чего изменение их количества является маркером развивающегося в организме воспаления (особенно – тяжёлых системных воспалительных процессов).

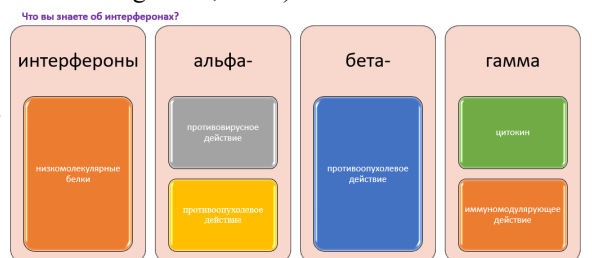
Положительные белки острой фазы принадлежат системе иммунитета и синтезируются гепатоцитами под влиянием цитокинов (основную роль в этом случае играет интерлейкин-6), синтез которых является следствием цепочки событий, запускаемых клетками, участвующими в воспалительной реакции (нейтрофилами и макрофагами).

Наибольшее значение из этой группы белков имеют С-реактивный белок (С-реактивный протеин, CRP) и маннансвязывающий (используется также вариант – маннозсвязывающий) лектин (англ. mannose binding lectin, MBL).



Интерфероны

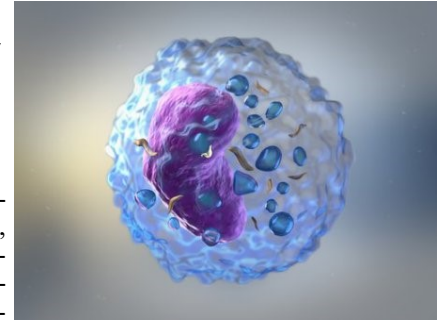
Низкомолекулярные белки; альфа-интерферон оказывает противовирусное и противоопухолевое действие, бета-интерферон оказывает противоопухолевое действие, гамма-интерферон является цитокином и оказывает иммуномодулирующее действие.



NK-клетки

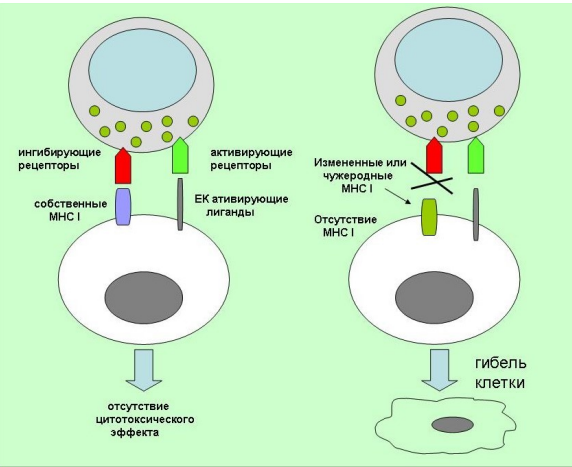
NK-клетки (англ. Natural killer cells = NK cells; естественные киллеры) представляют собой большие гранулированные лимфоциты, не относящиеся ни к Т-ни к В-лимфоцитам; осуществляют внеклеточный киллинг (уничтожение) клеток, несущих чужеродный антиген.

NK-клетки обеспечивают ответ на заражение внутриклеточными бактериями и вирусами, а также принимают участие в работе противоопухолевого иммунитета.



В отличие от цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ, один из видов Т-лимфоцитов), НК-клетки распознают заражённые клетки без предварительной сенсибилизации – другими словами, можно сказать, активации – антигеном, поэтому ответ, опосредуемый НК-клетками, является очень быстрым.

На поверхности НК-клеток есть рецепторы двоякого рода – активирующие и ингибирующие. Первые реагируют, например, на молекулы, появляющиеся на клетках, инфицированных внутриклеточными микробами, а ко вторым относится рецептор к молекуле главного комплекса гистосовместимости первого класса (МНС-I), присутствующей на всех ядродержащих клетках макроорганизма и отвечающей за их индивидуальность, т.е. принадлежащих к конкретной индивидуальной особи. Именно на эту молекулу, вернее, на её "не свою" специфичность, прежде всего реагирует трансплантационный иммунитет, начиная отторгать пересаженный орган.



Ингибирующий и активирующий сигналы в НК-клетках – т.е. каким образом НК-клетки «узнают», какие именно клетки им нужно уничтожить
(<https://medanalises.net/krov/limfocity/img/nk-limfo.jpg>)

Клетки, инфицированные внутриклеточными паразитами, как правило, перестают экспрессировать (т.е. "выставлять" на свою внешнюю мембрану) молекулу МНС-I, экспрессия МНС-I снижается и на опухолевых клетках, что, кстати, затрудняет их элиминацию цитотоксическими лимфоцитами (механизм распознавания ЦТЛ своих мишеней будет рассмотрен ниже).

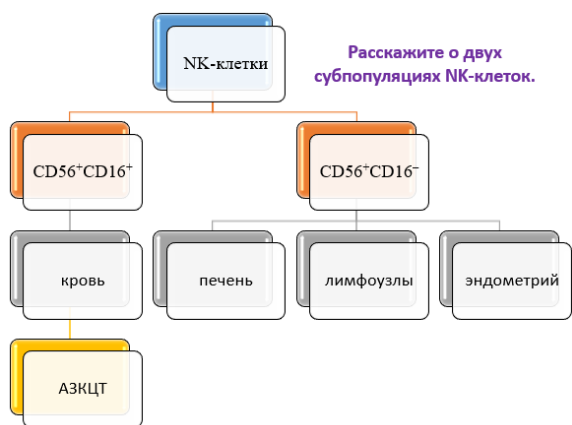
Механизм цитотоксичности НК-клеток напоминает таковой у ЦТЛ. Как и последние, НК-клетки содержат цитоплазматические гранулы, в состав которых входят особые белки, которые при активации НК-клеток высвобождаются во внеклеточное пространство вблизи клеток-мишеней и убивают их.

Один из белков, входящих в гранулы НК-клеток, перфорин, является аналогом терминального компонента системы комплемента С9 и полимеризуется в мембране клетки-мишени, образуя поры (аналогично мембраноатакующему комплексу системы комплемента, о котором будет сказано ниже).

Через эти поры в клетку-мишень входят другие белки из гранул НК-клеток, которые называются гранзимами и представляют собой ферменты из группы сериновых протеаз. Гранзимы запускают в клетке-мишени каскад сигнальных путей, в конечном счёте приводящих к гибели клетки-мишени путём апоптоза.

Помимо перфорина и гранзимов, гранулы НК-клеток содержат и другие биологически активные вещества. В частности, НК-клетки продуцируют гамма-интерферон, который активирует макрофаги и запускает процесс разрушения поглощенных ими объектов.

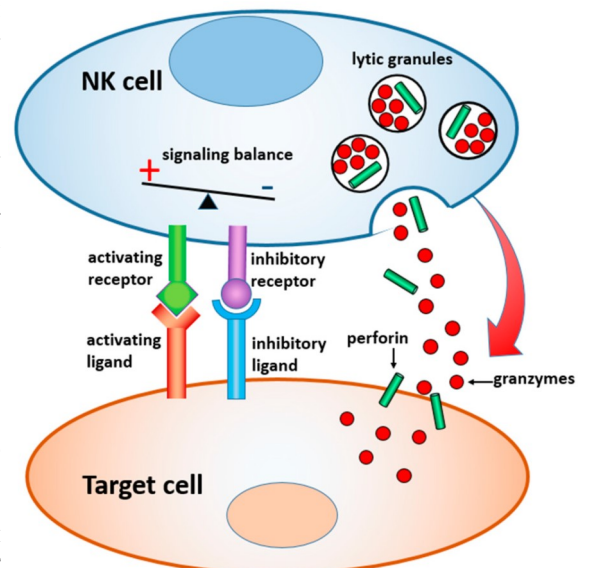
Среди клеток крови НК-клетки можно отличить по экспрессии гликопротеина CD56 (о CD-молекулах, позволяющих отличить одни клетки от других, будет сказано ниже) и отсутствию маркера Т-клеток CD3. У человека большая часть НК-клеток, находящихся в крови, также экспрессируют CD16 (CD56⁺CD16⁺), благодаря которому они распознают клетки, покрытые антителами и осуществляют процесс антителозависимой клеточной цитотоксичности (один из иммунных механизмов адаптивного иммунитета, о котором будет сказано ниже).



(CD56⁺CD16⁻), они преобладают в печени, лимфатических узлах и эндометрии матки.

Общее понятие о системе комплемента

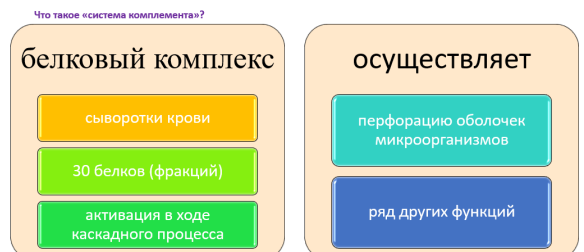
Сложный белковый комплекс сыворотки крови, состоит из 30 белков (фракций), активизируется за счёт каскадного процесса, осуществляет перфорацию оболочек бактериальных клеток, а также выполняет ряд других функций.



Механизм цитотоксичности НК-клеток (объяснение в тексте)
(https://www.mdpi.com/ijms/ijms-20-00646/article_deploy/html/images/ijms-20-00646-g001.png)

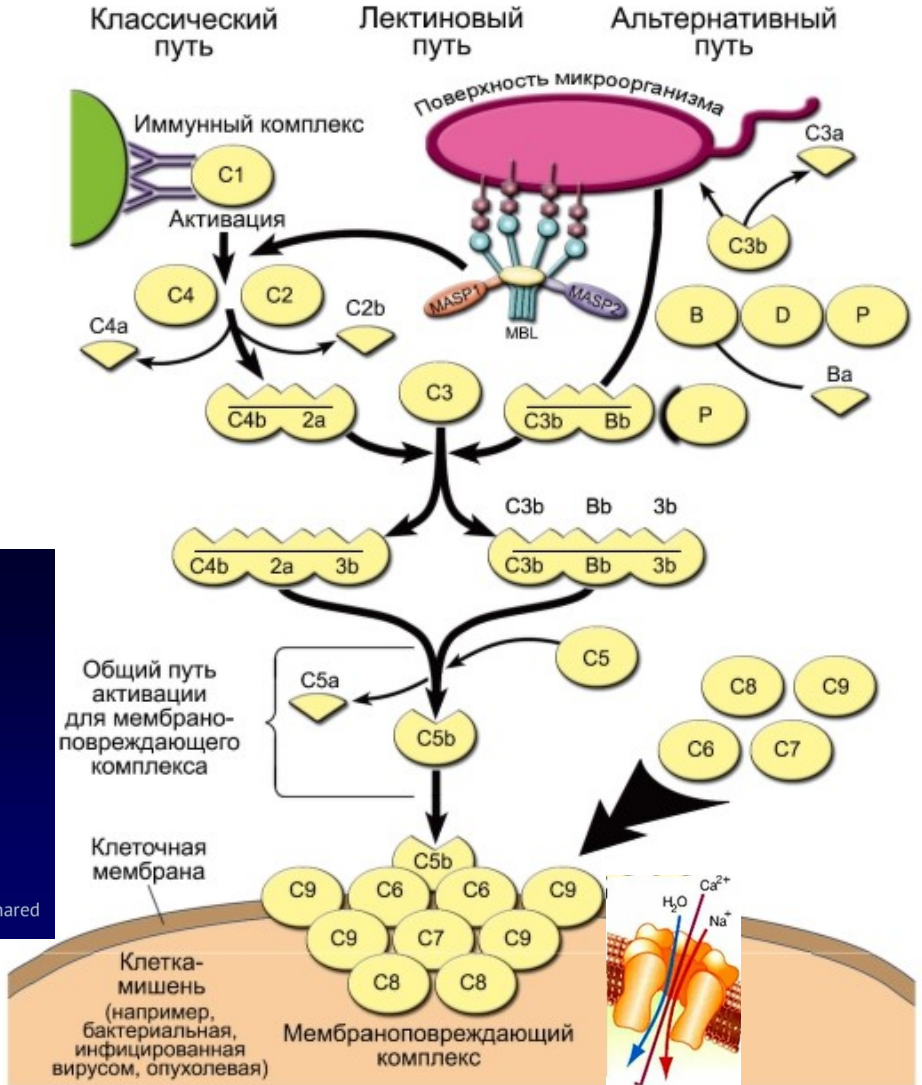
У человека большая часть НК-клеток, находящихся в крови, также экспрессируют CD16 (CD56⁺CD16⁺), благодаря которому они распознают клетки, покрытые антителами и осуществляют процесс антителозависимой клеточной цитотоксичности (один из иммунных механизмов адаптивного иммунитета, о котором будет сказано ниже).

Есть и вторая субпопуляция НК-клеток, не экспрессирующих CD16

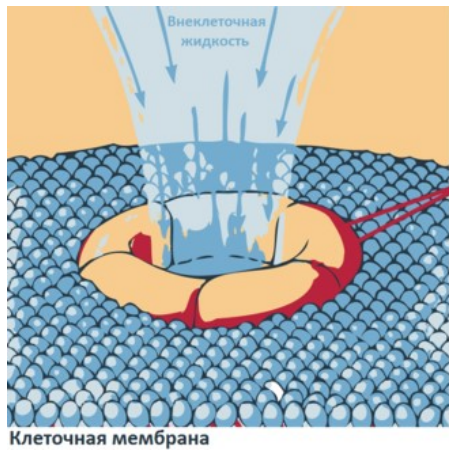


Пути активации системы комплемента

Существуют три пути активации комплемента: классический, лектиновый и альтернативный; при классическом пути фракции комплемента активируются в следующем порядке: C1-C4-C2-C3-C5-C6-C7-C8-C9 (комплекс C5bC6C7C8C9, образующийся в результате активации комплемента, называется мембраноатакующим комплексом – МАК, формирует в мембране микробной клетки неспадающую пору, что приводит к лизису микроба, так как на его поверхности образуется множество таких пор); лектиновый путь активации аналогичен классическому, но роль фракции



Формирование и действие активированной фракции C1
<https://prezentacii.org/upload/cloud/19/05/2733/images/screen5.jpg>



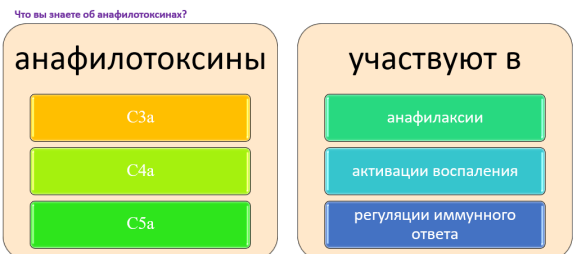
Общая схема активации комплемента
<https://cf.ppt-online.org/files1/slide/y/YOF5iCkUitjmus6qxQKPE7vLp42ac1WNrn1MdybGhJA/slide-41.jpg>

Мембраноатакующий комплекс – конечный результат активации системы комплемента
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/ae/%D0%9C%D0%B5%D0%BC%D0%B1%D1%80%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B0%D1%82%D0%B0%D0%BA%D1%83%D1%8E%D1%89%D0%B8%D0%B9_%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%81.png

C1 играет маннансвязывающий лектин (МСЛ); при альтернативном пути активации фракции комплемента активируются в следующем порядке: C3-B-C3-C5-C6-C7-C8-C9.

Анафилоксины

Активные фракции комплемента C3a, C4a и C5a называются анафилоксинами (от др.-греч. ἀνά- «против-», + φύλαξις «защита» и др.-греч. τοξικός «ядовитый»), так как участвуют, помимо прочего, в аллергической реакции, называемой анафилаксия; кроме этого, анафилоксины участвуют в активации воспалительной реакции и регуляции иммунного ответа.



Активаторы системы комплемента

Активаторами системы комплемента являются молекулярные комплексы, располагающиеся на поверхности микроорганизма, и запускающие процесс активации комплемента по тому или иному пути: активацию комплемента по классическому пути запускает комплекс антигена с иммуноглобулином или С-реактивным белком; лектиновый путь активации комплемента запускается комплексом нормального белка сыворотки крови – маннансвязывающего лектина (МСЛ) – с углеводами поверхностных структур микробных клеток; альтерна-

тивный путь активации комплемента начинается с ковалентного связывания активной фракции C3b – которая всегда присутствует в сыворотке крови в результате постоянно протекающего здесь спонтанного расщепления фракции C3 – с поверхностными молекулами не всех, но некоторых микроорганизмов.

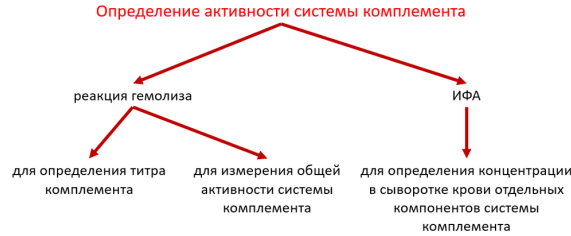
Перечислите функции системы комплемента.



Функции системы комплемента

Система комплемента участвует в инактивации микроорганизмов, в т.ч. опосредует действие на микробы антител, активные фракции системы комплемента активируют фагоцитоз и принимают участие в формировании воспалительной реакции.

Как определяют активность системы комплемента?



Определение активности системы комплемента

Для определения активности комплемента в современных иммунологических лабораториях используют реакцию гемолиза (для определения титра комплемента и для измерения общей активности системы комплемента) и иммуферментный анализ – ИФА (для определения концентрации в сыворотке крови отдельных компонентов системы комплемента).

Определение термина «фагоцитоз»

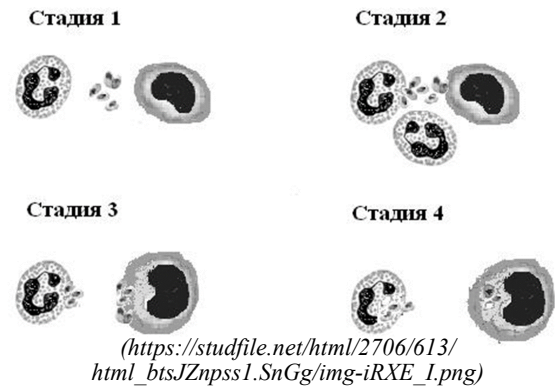
Под фагоцитозом понимают внутриклеточную цитотоксичность (внутриклеточный киллинг) микроорганизмов и биодеградацию других частиц диаметром более 0,1 мкм.

Перечислите стадии фагоцитоза.



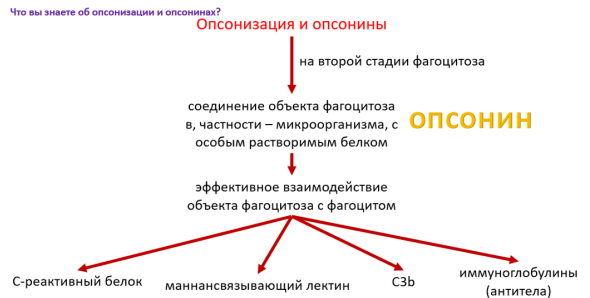
Стадии фагоцитоза

Выделяют четыре стадии фагоцитоза: хемотаксис, адгезия, эндоцитоз и биодеградация.

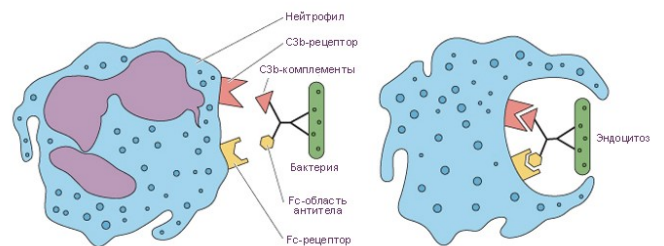


Опсонизация и опсонины

Вторая стадия фагоцитоза активизируется за счёт опсонизации (соединение объекта фагоцитоза в, частности – микроорганизма, с особым растворимым белком – опсонином, обуславливающим более эффективное взаимодействие объекта фагоцитоза с фагоцитом)



с фагоцитом); в роли опсониннов выступают: С-реактивный белок, маннансвязывающий лектин, активная фракция комплемента C3b, иммуноглобулины (антитела).



Рисунок, иллюстрирующий механизм опсонизации (https://present5.com/presentation/3/-42855438_132150634.pdf-img/-42855438_132150634.pdf-56.jpg)

Виды фагоцитоза

Существует два вида фагоцитоза: **завершенный** (осуществляются все четыре стадии, и объект фагоцитоза полностью уничтожается) и **незавершенный** (четвертая стадия или отсутствует или не завершается полным уничтожением объекта фагоцитоза).

Какие виды фагоцитоза вы знаете?



Функции фагоцитов

Фагоциты выполняют три основные функции: уничтожают посредством завершенного фагоцитоза микроорганизмы и другие объекты, от которых следует очистить внутреннюю среду макроорганизма

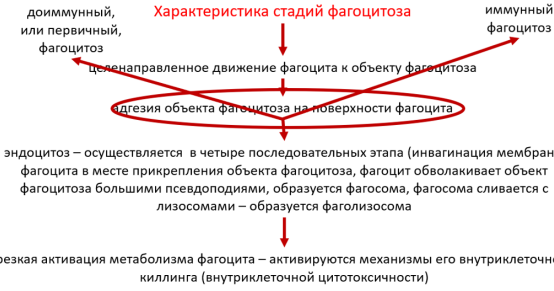
Перечислите функции фагоцитов.



Характеристика стадий фагоцитоза

Первая стадия фагоцитоза – целенаправленное движение фагоцита к

Охарактеризуйте стадии фагоцитоза.

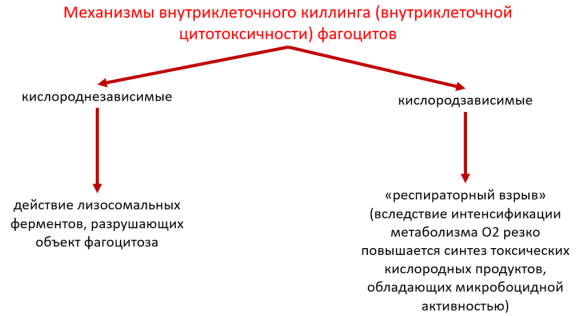


объекту фагоцитоза, вторая стадия фагоцитоза – адгезия объекта фагоцитоза на поверхности фагоцита (механизмом осуществления этой стадии отличается доиммунный, или первичный, фагоцитоз от иммунного фагоцитоза), третья стадия фагоцитоза – эндоцитоз – осуществляется в четыре последовательных этапа (инвагинация мембраны фагоцита в месте прикрепления объекта фагоцитоза, фагоцит обволакивает объект фагоцитоза большими псевдоподиями, образуется фагосома, фагосома сливается с лизосомами – образуется фаголизосома), на четвертой стадии фагоцитоза происходит резкая активация метаболизма фагоцита – активируются механизмы его внутриклеточного киллинга (внутриклеточной цитотоксичности).

Механизмы внутриклеточного киллинга (внутриклеточной цитотоксичности) фагоцитов

Эти механизмы классифицируются на две группы: кислороднезависимые механизмы внутриклеточной цитотоксичности фагоцита обеспечиваются действием лизосомальных ферментов, разрушающих объект фагоцитоза, и кислородзависимые механизмы внутриклеточной цитотоксичности фагоцита описываются как «респираторный взрыв» (вследствие интенсификации метаболизма O₂ резко повышается синтез токсических кислородных продуктов, обладающих микробоцидной активностью).

Что вы знаете о механизмах внутриклеточного киллинга (внутриклеточной цитотоксичности) фагоцитов?



Способы ухода микробов из-под действия механизмов внутриклеточной цитотоксичности фагоцитов

Что вы знаете о способах ухода микробов из-под действия механизмов внутриклеточной цитотоксичности фагоцитов?

Способы ухода микробов из-под действия механизмов внутриклеточной цитотоксичности фагоцитов

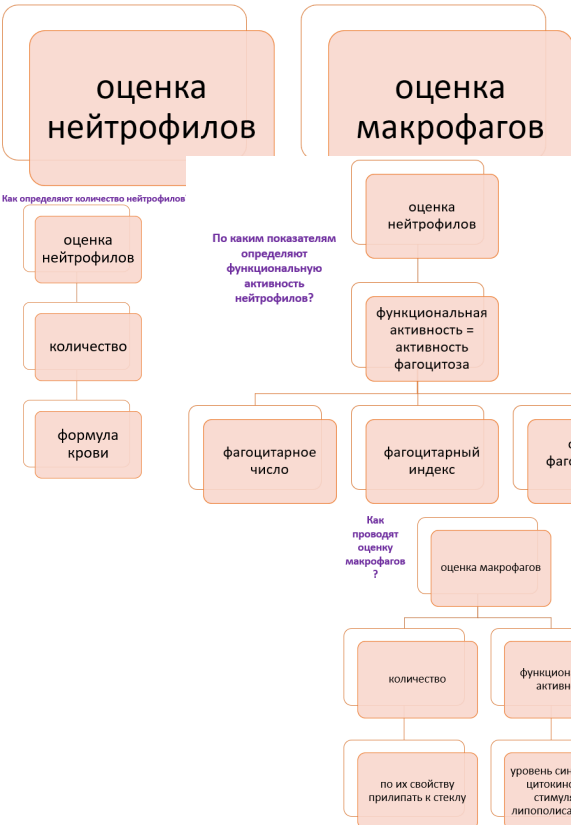


Некоторые микроорганизмы способны сохранять свою жизнеспособность внутри фагоцита; это может достигаться за счет трех основных способов: препятствие слиянию лизосом с фагосомами, выработка устойчивости к действию лизосомальных ферментов, лизис бактериальной фаголизосомальной мембраны и переход их в цитоплазму фагоцита.

Оценка фагоцитоза

При оценке фагоцитоза изучают микрофаги (нейтрофилы) и макрофаги; при изучении нейтрофилов определяют их количество (вычисляя формулу крови) и функциональную активность, о которой судят по активности фагоцитоза (измеряя фагоцитарное число, фагоцитарный индекс, опсонофагоцитарный индекс), по миграционной способности фагоцитов (определяется в реакции направленного хемотаксиса и в реакции торможения миграции лейкоцитов – РТМЛ) и по степени завершенности фагоцитоза (для чего используют метод подражания бактериально-лейкоцитарной смеси и НСТ-тест); при изучении макрофагов также определяют их количество (по их свойству прилипать к стеклу) и функциональную активность (по уровню синтеза ими цитокинов при стимуляции, например липополисахаридом).

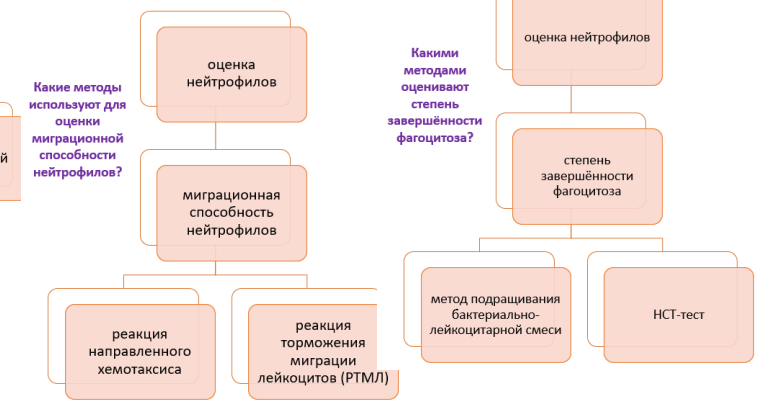
Какие клетки анализируются при оценке фагоцитоза?



По каким показателям проводят оценку нейтрофилов?



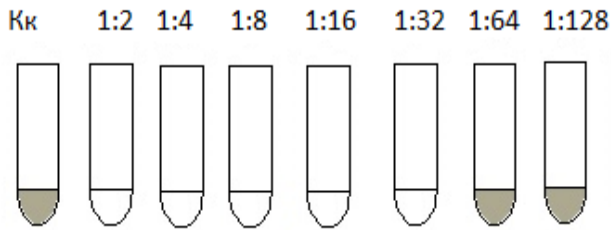
Оценка фагоцитоза



1. Определение титра лизоцима в слюне (алгоритм проведения и оценка результата):

1. последовательное разведение слюны в МПБ;
2. засев этих разведений чувствительным к лизоциму бактериальным штаммом.
3. термостатирование.
4. учёт опыта – титр лизоцима равен максимальному разведению, препятствующему росту тест-штамма.

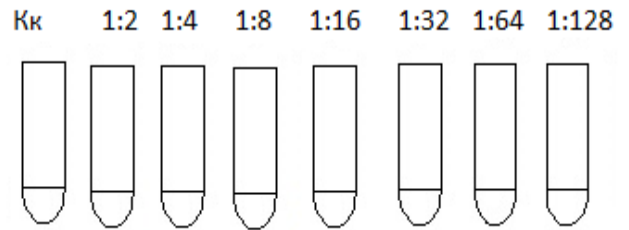
Разведения слюны



*Титр лизоцима в слюне – 1:32
(здесь и ниже:*

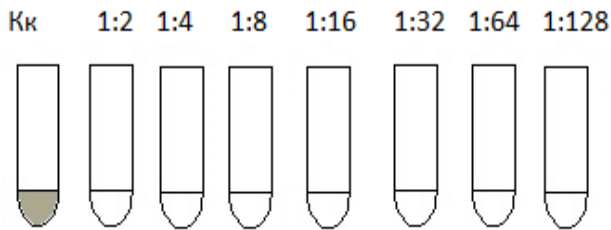
Кк – контроль бактериальной культуры, белый цвет содержимого – нет роста, тёмный – есть рост микроорганизма)

Разведения слюны



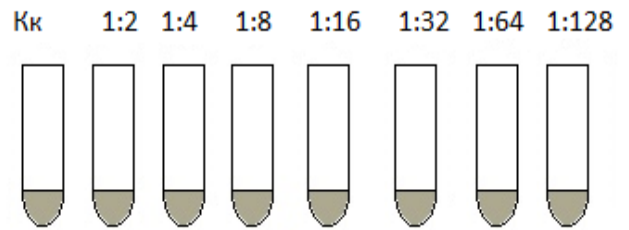
Тест-штамм потерял жизнеспособность (нет роста в контроле культуры) – следует взять другой тест-штамм и повторить опыт

Разведения слюны



Титр лизоцима выше, чем 1:128 – следует приготовить более высокие разведения слюны и повторить опыт

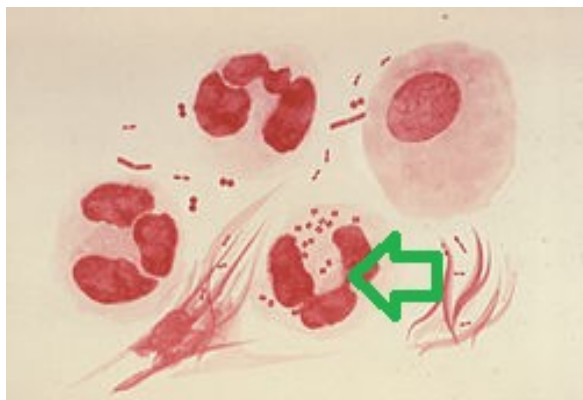
Разведения слюны



Титр лизоцима ниже, чем 1:2 – следует приготовить более низкие разведения слюны и повторить опыт

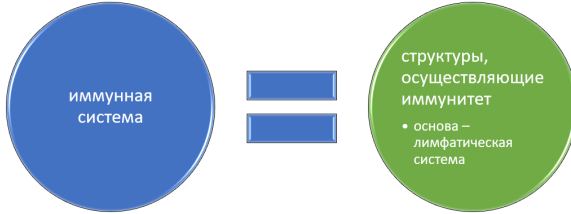
2. Вычисление по мазку фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса:

1. смешивание крови с тест-культурой (например, стафилококка);
2. термостатирование в течение 30 минут;
3. приготовление и окраска мазка;
4. микроскопия мазка с подсчётом
 - а. фагоцитарного числа (среднего числа микробов, поглощённого одним нейтрофилом, для чего в определённом числе попавших в поле зрения нейтрофилов подсчитывается количество микробных тел, и эта сумма делится на число просмотренных нейтрофилов),
 - б. фагоцитарного индекса (относительное количество нейтрофилов, в %, участвующих в фагоцитозе – для его вычисления количество нейтрофилов, содержащих в цитоплазме тест-микробы, выражают в процентах к общему числу просмотренных нейтрофилов).



Нейтрофил, участвующий в фагоцитозе, показан стрелкой

Дайте определение иммунной системы и какая из анатомо-гистологическая система составляет её основу?



Иммунная система организма человека

Иммунная система – это система биологических структур, осуществляющая функцию иммунитета. Основу её составляет лимфатическая система, которая использует в своей деятельности в качестве партнёров другие органы и системы.

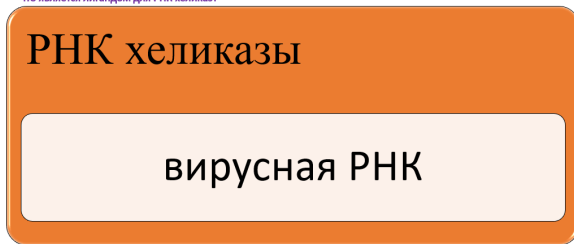
Иммунная система организма человека включает в себя две подсистемы: врождённую иммунную систему и адаптивную иммунную систему. Обе системы

обладают специальными молекулами – рецепторами – распознающими информационный сигнал, запускающий функцию иммунитета. Адаптивная иммунная система специфична и реагирует на конкретный антиген, для чего в её составе имеются специфические для каждого отдельного антигена антигенраспознающие рецепторы. Врождённая иммунная система неспецифична и реагирует на стандартные молекулярные структуры, характерные для больших групп патогенов (например, липополисахарид грамотрицательных бактерий). Такие молекулярные структуры называются паттернами (англ. pattern «узор, образец, шаблон; форма, модель» – широко используемый от техники до искусства и психологии термин, обозначающий повторяющийся элемент). Рецепторы врождённой иммунной системы, которые с ними реагируют, так и называются – рецепторы опознавания паттернов (pattern recognition receptors, PRRs). PRRs распознают молекулярные паттерны двух классов: молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами (англ. pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), и молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждениями (англ. damage-associated molecular patterns, DAMPs). Рецепторы к PAMPs узнают клетки патогенов и вирусные частицы, а рецепторы к DAMPs узнают клетки самого организма, подвергшиеся повреждениям или стрессу (например, реагируют на мочевую кислоту).

Рецепторы опознавания паттернов врождённой иммунной системы по своей локализации классифицируются на мембранные, цитоплазматические и секретируемые. К первым относятся толл-подобные рецепторы, ко вторым – Nod-подобные рецепторы и РНК хеликазы, к третьим – многочисленные молекулы, например, рецепторы комплемента, С-реактивный белок, маннансвязывающий лектин.

Толл-подобные рецепторы (англ. Toll-like receptor, TLR; от нем. toll «большой, восхитительный») играют ключевую роль во врождённом иммунитете. Локализуясь на внешней мембране клеток и на мембране эндосом, они, являясь одними из наиболее мощных клеточных генных модуляторов, в результате связи со своими лигандами (бактериями, вирусами, грибами) индуцируют синтез клетками цитокинов (молекул иммунной системы) и молекул, стимулирующих презентацию антигена для адаптивной иммунной системы. У человека существует десять таких рецепторов (TLR1-TLR10); ген, детерминирующий синтез TLR11, в нашем геноме присутствует, но репрессирован несколькими стоп-кодонами.

Nod-подобные рецепторы (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors «нуклеотид-связывающие олигомеризационные доменоподобные рецепторы») также играют ключевую роль во врождённом



иммунитете – наряду с TLR, с которыми они могут взаимодействовать в регуляции воспалительного и апоптического ответа. Кроме самих микроорганизмов (бактерий, вирусов, грибов), Nod-подобные рецепторы реагируют с бактериальными токсинами, а также с сигналами повреждённых или стрессированных клеток (DAMPs).

РНК хеликазы взаимодействуют с вирусной РНК. О роли в иммунитете С-реактивного белка и маннансвязывающий лектина – примеров секретируемых рецепторов опознавания паттернов – было сказано выше.

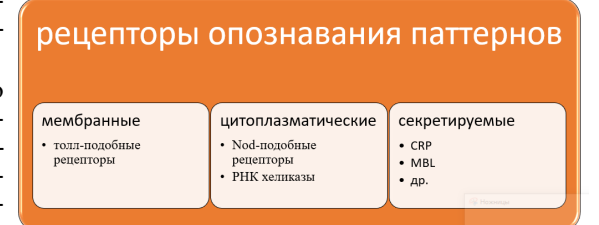
Анатомо-физиологический принцип устройства адаптивной иммунной системы

Адаптивная иммунная система строится по органно-циркуляторному анатомо-физиологическому принципу, заключающемуся в функциональном единстве циркулирующих по организму лимфоцитов и стационарно располагающихся органов адаптивной иммунной системы.

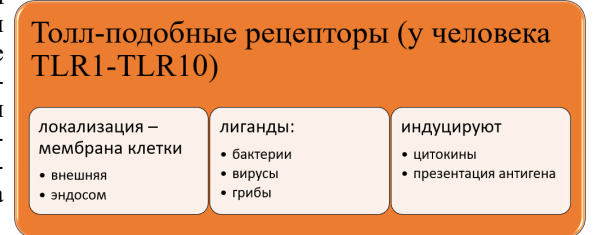


Рецепторы врождённой иммунной системы (pattern recognition receptors, PRRs). PRRs распознают молекулярные паттерны двух классов: молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами (англ. pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), и молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждениями (англ. damage-associated molecular patterns, DAMPs).

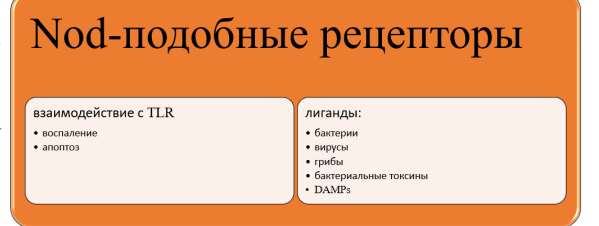
На какие три вида классифицируются рецепторы опознавания паттернов и какие группы рецепторов относятся к каждому из этих видов?



Что вы знаете о локализации и лигандах толл-подобных рецепторов; сколько таких рецепторов существует у человека?



Что вы знаете о Nod-подобных рецепторах?



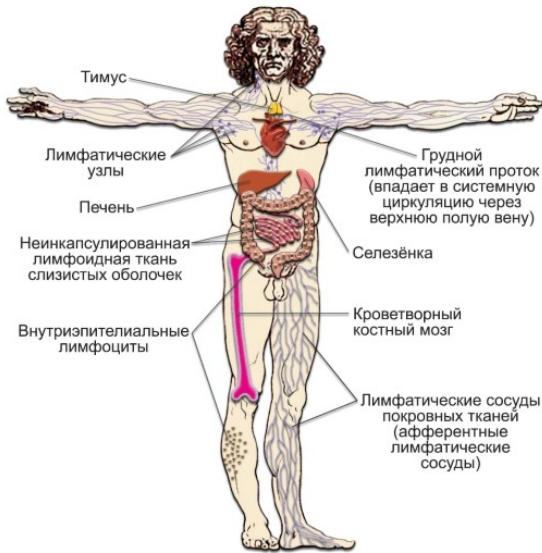
РНК хеликазы взаимодействуют с вирусной РНК. О роли в иммунитете С-реактивного белка и маннансвязывающий лектина – примеров секретируемых рецепторов опознавания паттернов – было сказано выше.



Общая схема состава адаптивной иммунной системы

Адаптивная иммунная система состоит из органов, отдельных клеток и отдельных молекул, как в составе клеток, так и секретируемых по-





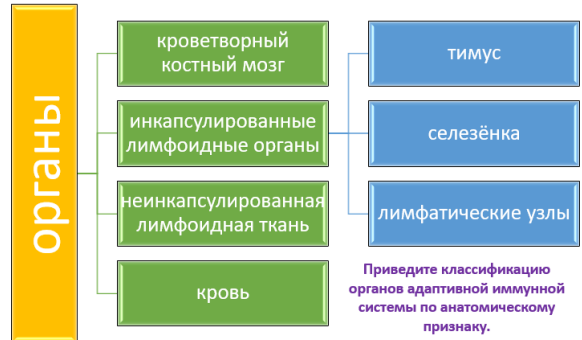
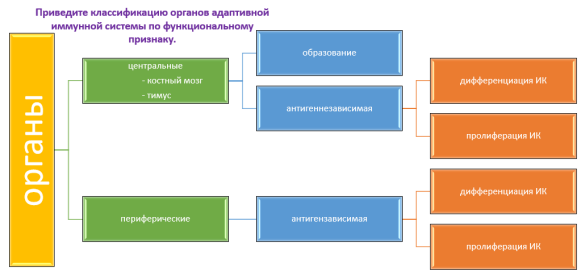
Расположение основных органов иммунной системы в организме человека (https://cs13.pikabu.ru/post_img/big/2020/03/25/11/158516150713727163.jpg)

следними в биологические жидкости организма (прежде всего – в кровь).

Органы адаптивной иммунной системы

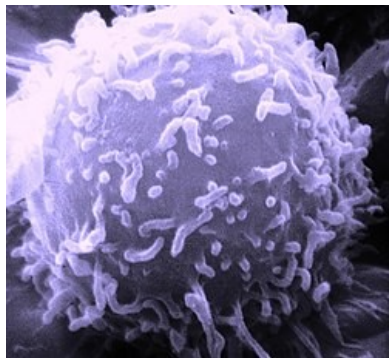
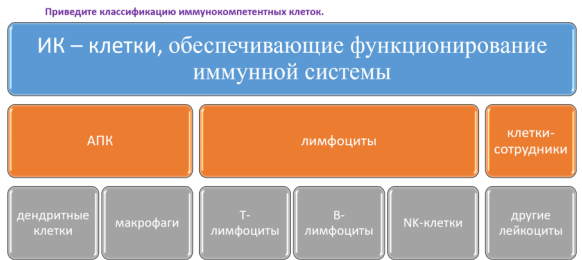
Органы адаптивной иммунной системы по функциональному признаку классифицируются на центральные (костный мозг и тимус), в которых происходит образование и антиген-независимая дифференциация и пролиферация иммунокомпетентных клеток, и периферические, в которых происходит антиген-зависимая дифференциация и пролиферация иммунокомпетентных клеток.

По анатомическому признаку органы адаптивной иммунной системы подразделяются на четыре группы: кроветворный костный мозг, инкапсулированные лимфоидные органы, лимфатические узлы, неинкапсулированная лимфоидная ткань и периферическая кровь, являющаяся транспортно-коммуникационным компонентом иммунной системы.



Иммунокомпетентные клетки

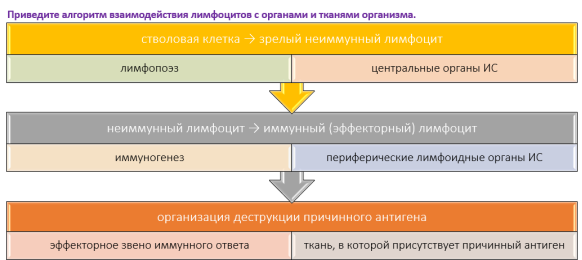
Под иммунокомпетентными клетками понимают клетки, обеспечивающие функционирование иммунной системы. Разграничить их по принадлежности к одной из двух иммунных систем затруднительно, поскольку на клеточном уровне происходит тесная взаимодействие двух иммунных систем. Поэтому иммунокомпетентные клетки классифицируются по их функции, выполняемой в иммунитете, на антигенпрезентирующие клетки и лимфоциты (Т-лимфоциты, В-лимфоциты и NK-клетки). Кроме того, лимфоциты в ходе иммунного ответа могут в качестве сотрудников привлекать и другие клетки (прежде всего – лейкоциты). Способностью презентовать (т.е. представлять после первичной обработки) антиген лимфоцитам обладают прежде всего дендритные клетки и макрофаги; кроме них такой функцией, как будет показано ниже, могут обладать и В-лимфоциты.



Лимфоцит в сканирующем электронном микроскопе (https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/8/89/SEM_Lymphocyte.jpg/500px-SEM_Lymphocyte.jpg)

Алгоритм взаимодействия лимфоцитов с органами и тканями организма

Дифференцировка лимфоцита от стволовой клетки до зрелого неиммунного лимфоцита происходит в центральных органах иммунной системы в процессе лимфопоэза; дифференцировка неиммунного лимфоцита в иммунные (эффektorные) лимфоциты происходит в периферических лимфоидных органах иммунной системы в процессе иммуногенеза; процессы организации деструкции причинного антигена (т.е. эффektorное звено иммунного ответа) происходит в ткани, где этот причинный антиген присутствует.



Сущность дифференцировки Т- и В-лимфоцита

Сущность дифференцировки Т- и В-лимфоцита

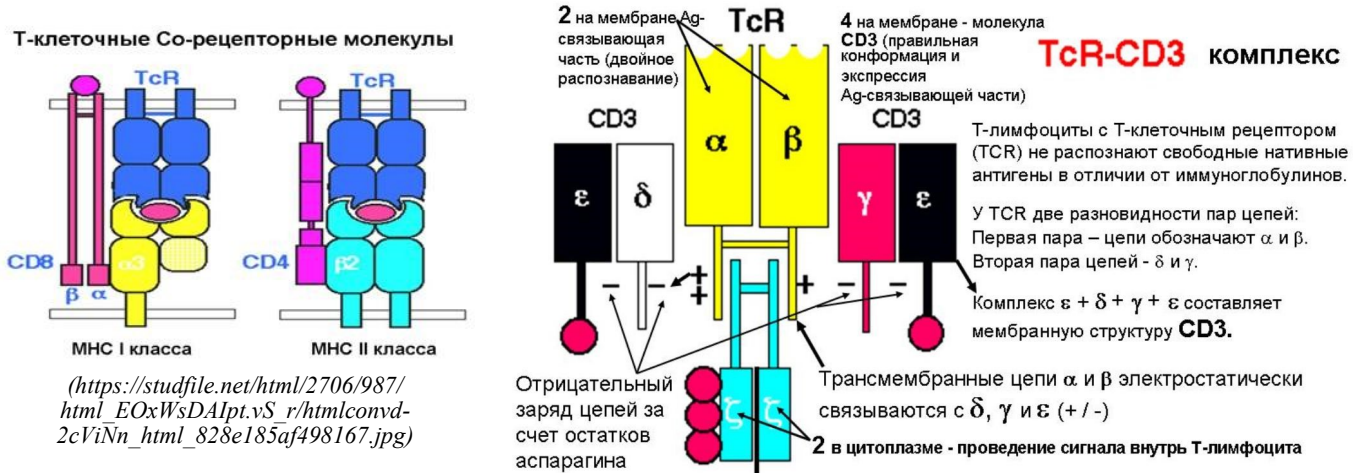
Дифференцировка Т- и В-лимфоцита опосредуется путём синтеза им определённого набора молекул иммунной системы, часть из которых экспрессируется на его мембране (антигенраспознающий рецептор и мембранные корецепторные молекулы), а часть – синтезируется им в околоклеточную среду (цитокины).

TCR

Т-клеточный рецептор, т.е. антигенраспознающий рецептор Т-лимфоцитов, распознаёт комплекс МНС+пептидный антиген (т.е. специфически взаимодействует – связывается – с этим молекулярным комплексом). С Т-клеточным рецептором тесно ассоциирована молекула CD3; корецепторными молекулами служат CD8, реагирующая с МНС-I (у CD8-субпопуляции Т-лимфоцитов) и CD4, реагирующая с МНС-II (у CD4-субпопуляции Т-лимфоцитов).



Корцепторные молекулы нужны для стабильной связи рецептора с лигандом.



(https://studfile.net/html/2706/987/html_EOxWsDAIpt.vS_r/htmlconvd-2cViNn_html_828e185af498167.jpg)

(https://studfile.net/html/2706/987/html_EOxWsDAIpt.vS_r/htmlconvd-2cViNn_html_8f66d6a1fd274600.jpg)

по Хаитову Р.М., 2000

Структура Т-клеточного рецептора, состав и функции формирующих его полипептидных цепей представлены на рисунках.

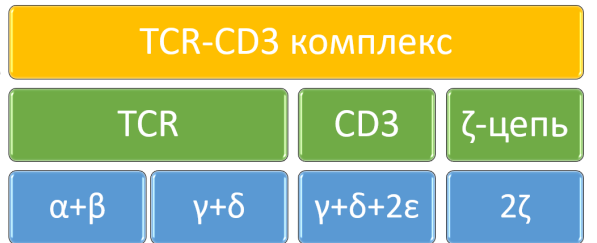
Сам Т-клеточный рецептор представлен двумя полипептидными цепями, имеющими – как и все молекулы иммуноглобулинового суперсемейства, к которому он относится – доменную (см. ниже) структуру. Каждая из двух полипептидных цепей Т-клеточного рецептора имеет два домена, трансмембранный сегмент и короткий цитоплазматический участок. Существует две разновидности этого гетеродимерного белка: один с парой цепей α и β , второй с парой цепей γ и δ (не путать с одноименными субъединицами молекулы CD3).

Последняя образована четырьмя субъединицами: CD3 γ , CD3 δ и двумя CD3 ϵ .

Трансмембранный сегмент каждой из субъединиц CD3 содержит отрицательно заряженный аминокислотный остаток, а TCR – положительно заряженный. За счёт электростатических взаимодействий они объединяются в общий функциональный комплекс Т-клеточного рецептора.

Специфическое распознавание антигена осуществляет исключительно TCR, а в функции комплекса CD3 входит передача сигналов в клетку, а также стабилизация Т-клеточного рецептора на поверхности мембраны.

В состав TCR-CD3 комплекса входит ещё один димерный (состоящий из двух одинаковых полипептидных цепей) белок, иногда обозначаемый как CD247, но чаще – как дзета-цепь поверхностного гликопротеина CD3 Т-клеток или CD3-дзета (ζ -цепь; дзета-цепь Т3-клеточного рецептора). Эти две полипептидные цепи играют важную роль в проведении информационного сигнала о связывании TCR с антигеном на последующим событиям: активации, пролиферации и дифференциации



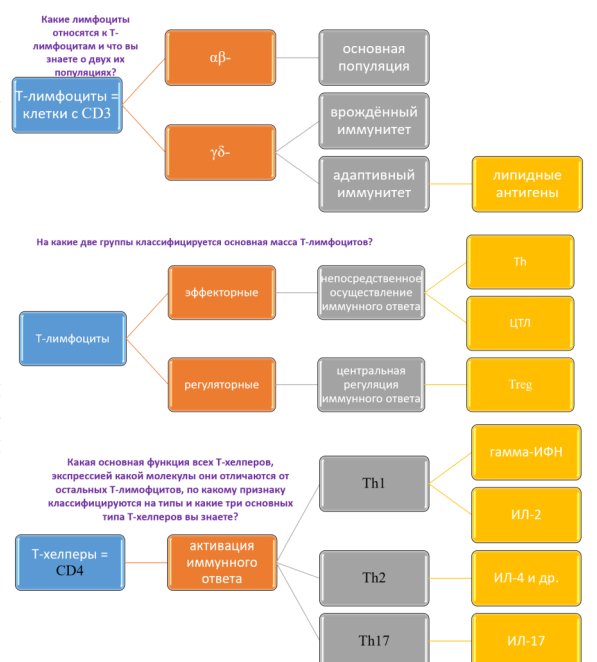
на генетический аппарат Т-клетки, дающем начало данному клону.

Субпопуляции Т-лимфоцитов и их функции

Большинство Т-лимфоцитов (клеток, несущих на себе молекулу CD3) представлено $\alpha\beta$ -популяцией (см. выше), небольшая популяция $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов находится в наибольшем количестве в слизистой оболочке кишечника, в популяции лимфоцитов, известных как интраэпителиальные лимфоциты. Функционируют они по своим собственным, во многом до сих пор неизвестным законам. Их TCR может выступать как рецептор опознавания паттернов, что даёт основания относить эти клетки также и к клеткам врождённого иммунитета. Считается, что как клетки адаптивного иммунитета, $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты распознают липидные антигены, не взаимодействуя с пептидными антигенами, презентированными в комплексе с MHC.

Что касается основной массы Т-лимфоцитов, т.е $\alpha\beta$ -Т-клеток, то они прежде всего классифицируются на две группы: эффекторные Т-лимфоциты и регуляторные Т-лимфоциты. Первые (Т-хелперы, Th и цитотоксические лимфоциты, ЦТЛ) непосредственно осуществляют иммунный ответ, вторые (Treg) обеспечивают центральную регуляцию иммунного ответа.

Т-хелперы активируют иммунный ответ. Они дифференцируются от остальных Т-лимфоцитов по экспрессии молекулы CD4. Дифференцировка различных типов Т-хелперов проводится по синтезируемым им цитокинам.

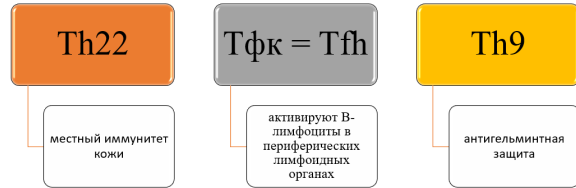


Основными типами Т-хелперов являются Т-хелперы 1 (Th1), Т-хелперы 2 (Th2) и Т-хелперы 17 (Th17). Th1 продуцируют гамма-интерферон и интерлейкин-2 (ИЛ-2), Th2 продуцируют группу интерлейкинов начиная с ИЛ-4, а Th17 продуцируют ИЛ-17 (почему так и названы).

Основная функция Th1 – активация клеточного иммунного ответа, Th2 активируют гуморальный иммунный ответ, Th17, открытые в 2005 г., ответственны главным образом за активацию местного иммунитета слизистых оболочек, прежде всего кишечника; они тесно связаны с Т-регуляторными клетками, и сигналы, которые заставляют Th17 дифференцироваться, фактически ингибируют дифференцировку Т-reg.

Три основных типа Т-хелперов, кроме того, регулируют клетки миелоидного ряда (т.е. принадлежащие системе врождённого иммунитета): Th1 регулируют макрофаги и моноциты, Th2 – эозинофилы, а Th17 – нейтрофилы.

Что вы знаете о других, кроме трёх основных, типах Т-хелперов?



Кроме трёх основных, описаны и другие типы Т-хелперов: Th22, продуцирующие ИЛ-22, и фолликулярные Т-хелперы (Тфк = Tfh). Первые открыты в 2009 г. и до сих пор о них мало что известно, разве что они играют роль в местном иммунитете кожи. Вторые активируют В-лимфоциты в периферических лимфоидных органах. Несколько лет назад выделили как отдельный тип Т-хелперов Th9, активирующий антигельминтную защиту.

Цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ, CTL, Т-киллеры) – эффекторная клетка клеточного иммунного ответа. Они поражают клетки, инфицированные внутриклеточными патогенами (прежде всего вирусами) и опухолевые клетки, а также повреждённые клетки собственного организма и клетки трансплантата. Механизм их внеклеточной цитотоксичности аналогичен NK-клеткам, но в отличие от последних ЦТЛ поражает лишь те, клетки, чужеродная метка которых – антиген – специфична для TCR данного клона цитотоксических лимфоцитов. Подобно Т-хелперам, ЦТЛ осуществляют двойное распознавание: распознаётся не сам антиген, а его комплекс с антигеном МНС, причём, от отличие от Т-хелперов, это должен быть МНС-I. Поэтому опухолевые клетки, полностью лишённые МНС-I не уничтожаются ЦТЛ, с такими опухолями борются только NK-клетки.

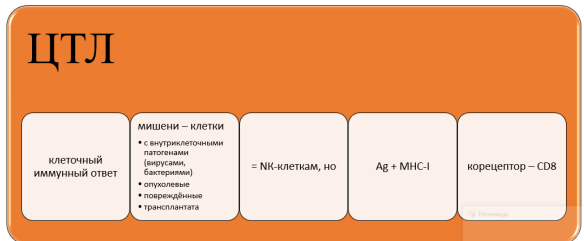
Для того, чтобы ЦТЛ связывался с молекулой МНС класса I, первая должна сопровождаться гликопротеином, называемым CD8, который связывается с постоянной частью молекулы МНС класса I. Поэтому эти Т-клетки называются CD8+ Т-клетками. Средство между CD8 и молекулой МНС-I удерживает ЦТЛ и клетку-мишень тесно связанными друг с другом во время антиген-специфической активации.

Регуляторные Т-лимфоциты (Treg, Т-супрессоры) – центральные регуляторы иммунного ответа. Основная их функция заключается в регулировании силы и продолжительности иммунного ответа через подавление (супрессию) функции Т-эффекторных клеток (Т-хелперов и Т-киллеров).

Различают несколько разных типов регуляторных Т-клеток: естественные Т-регуляторные клетки (T-reg1) и индуцибельные Т-регуляторные клетки (iT-reg). Последние образуются под влиянием различных факторов на периферии, например, в региональных лимфатических узлах.



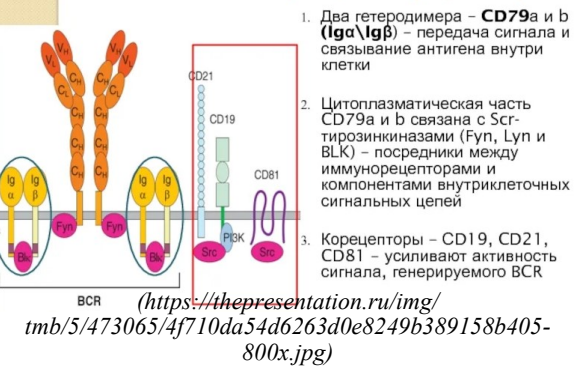
Что вы знаете о цитотоксических лимфоцитах?



Что вы знаете о регуляторных Т-лимфоцитах?



В –клеточный рецептор (BCR)



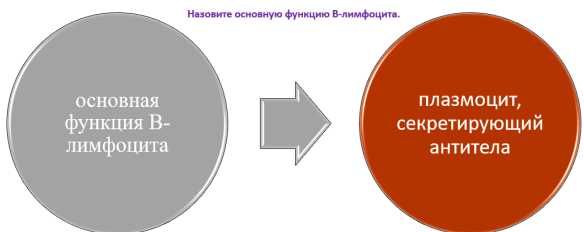
Функция В-лимфоцитов

Основная функция В-лимфоцита – превращение в ходе иммунного ответа в плазматическую клетку, секретирующую иммуноглобулины (антитела).

Мишенями действия Treg-клеток являются как эффекторные клетки, так и дендритные клетки, ответственные за презентацию антигена.

BCR

В-клеточный рецептор представляет собой мономерную форму иммуноглобулина и вспомогательный белкового гетеродимера Igα/Igβ (CD79a/CD79b), строго необходимого для функционирования рецептора. Корецепторный комплекс формируют молекулы CD19, CD21 и CD81.



Молекулы иммунной системы

К молекулам иммунной системы относятся антитела и факторы межклеточного взаимодействия; последние или располагаются на поверхности иммунокомпетентных клеток (дифференцировочные молекулы CD44, интегрины, селектины и молекулы иммуноглобулинового суперсемейства, включающее мембранные иммуноглобулины, TCR, MHC, CD3,4,8 и адгезины клеток иммунной системы) или синтезируются ими вовне (цитокины и интерфероны).



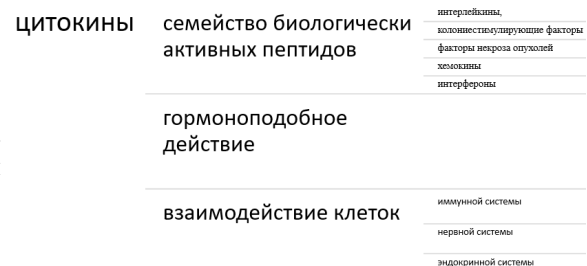
Характеристика факторов межклеточного взаимодействия иммунной системы

Адгезины клеток иммунной системы представляют собой CD-молекулы лейкоцитов и эндотелия сосудов, обеспечивающие адгезию между различными клетками и их сопутствующую стимуляцию (костимуляцию); селектины – молекулы, экспрессированные на активированном эндотелии, активированных лейкоцитах, активированных тромбоцитах; интегрины – главные молекулы, опосредующие взаимодействие клеток с межклеточным веществом; дифференцировочные молекулы CD44 определяют родство циркулирующих лимфоцитов к лимфоидным органам.



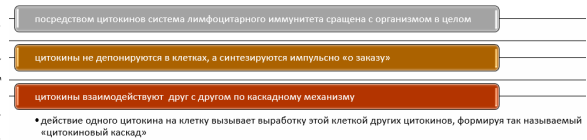
Общая характеристика цитокинов

Семейство биологически активных пептидов (интерлейкины, колониестимулирующие факторы, факторы некроза опухолей, хемокины, интерфероны), обладающих гормоноподобным действием и обеспечивающих взаимодействие клеток иммунной, кроветворной, нервной и эндокринной систем.



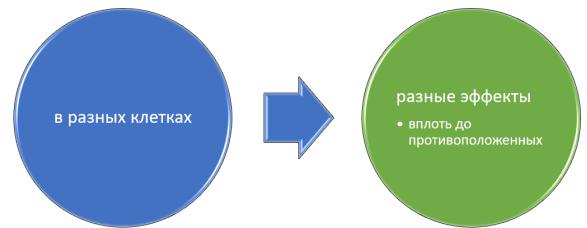
Общие свойства цитокинов

Посредством цитокинов система лимфоцитарного иммунитета срощена с организмом в целом, цитокины не депонируются в клетках, а синтезируются импульсно «по заказу», цитокины взаимодействуют друг с другом по каскадному механизму (действие одного цитокина на клетку вызывает выработку этой клеткой других цитокинов, формируя так называемый «цитокиновый каскад»).



Биологический эффект цитокина

Один и тот же цитокин может вызывать самые разные, вплоть до противоположенных, эффекты в разных клетках.



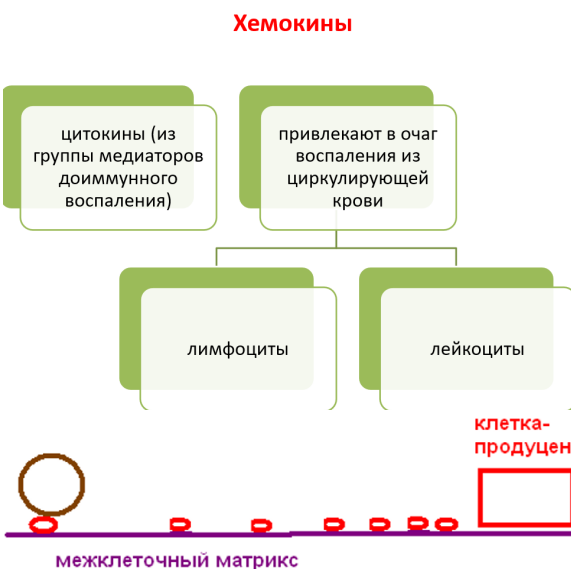
Основные функциональные группы цитокинов

Медиаторы доиммунного воспаления; регуляторы активации, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов; регуляторы иммунного воспаления; факторы роста клеток.



Хемокины

Цитокины из группы медиаторов доиммунного воспаления, которые привлекают в очаг воспаления лимфоциты и лейкоциты из циркулирующей крови.



Общая классификация иммунологических методов диагностики

Иммунологические методы диагностики классифицируются на три основные группы: серологические реакции (реакции между антигенами и антителами in vitro), клеточные реакции (реакции с участием иммунокомпетентных клеток), аллергические реакции (выявление состояния гиперчувствительности к антигену).

Цели постановки серологических реакций

Любую серологическую реакцию можно ставить или с целью идентификации антигена (в этом случае используются известные антитела в составе диагностических сывороток) или с целью выявления антител (в этом случае используются известные антигены – ингредиент, содержащий известный антиген, часто называется диагностикум).

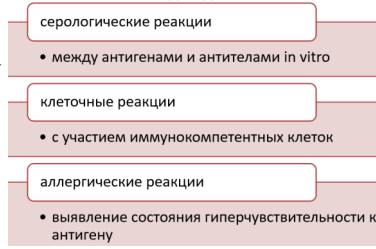
Общая классификация серологических реакций

Серологические реакции классифицируются на три основные группы: простые или двухкомпонентные (в которых участвуют лишь антиген и антитело – реакция агглютинации в случае корпускулярного антигена и реакция преципитации в случае растворимого), сложные или трёхкомпонентные (в которых помимо антигена и антитела участвует ещё и комплемент) и реакции с использованием метки (в которых или антиген или антитело несут на себе какую-либо метку, выявляемую в ходе учёта результата этой реакции).

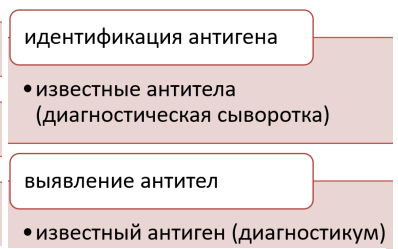
Сложные серологические реакции

Сложные серологические реакции или дают видимый эффект в положительном случае (реакция иммобилизации, реакция иммунного прилипания, реакция лизиса, частным случаем которой является реакция гемолиза) или в положительном случае видимого эффекта не дают (реакция связывания комплемента – РСК), что требует проведения на втором этапе их постановки процедуры визуализации (в случае РСК – реакции гемолиза).

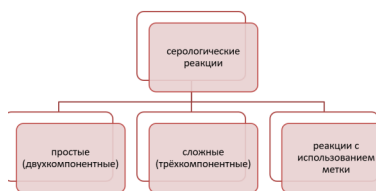
Общая классификация иммунологических методов диагностики



Цели постановки серологических реакций



Общая классификация серологических реакций



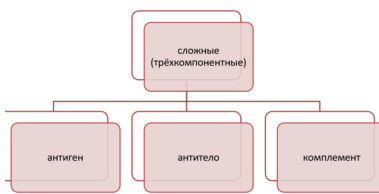
Общая классификация серологических реакций



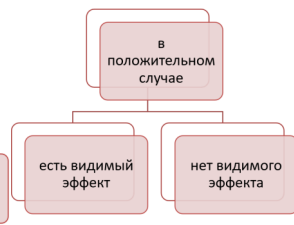
Общая классификация серологических реакций



Общая классификация серологических реакций



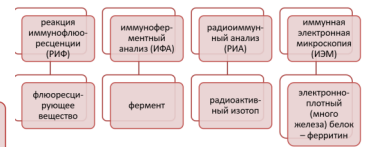
Сложные серологические реакции



Сложные серологические реакции



Реакции с использованием метки



Реакции с использованием метки

К этой группе серологических реакций относятся: реакция иммунофлюоресценции (РИФ) – в качестве метки используется флюоресцирующее вещество, иммуноферментный анализ (ИФА) – в качестве метки используется фермент, радиоиммунный анализ (РИА) – в качестве метки используется радиоактивный изотоп, иммунная электронная микроскопия (ИЭМ) – в качестве метки используется электронноплотный элемент (железосодержащий белок ферритин или наночастицы золота).

Сложные серологические реакции



Клеточные реакции

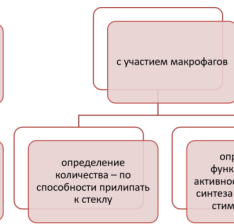
Клеточные реакции можно разделить на четыре группы: с участием нейтрофилов



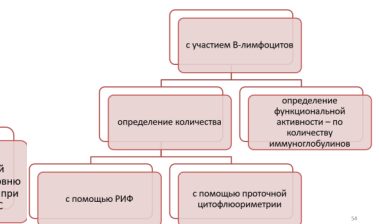
Клеточные реакции



Клеточные реакции

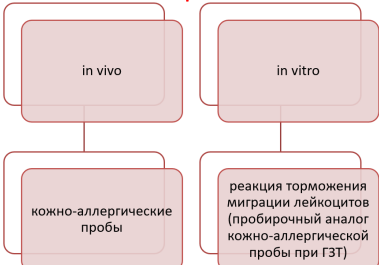


Клеточные реакции



(оценка их функциональной активности), с участием макрофагов (определение их количества по способности прилипать к стеклу, определение их функциональной активности по уровню синтеза цитокинов при стимуляции липополисахаридом), с участием В-лимфоцитов (определение их количества с помощью РИФ или проточной цитофлюориметрии, определение их функциональной активности по количеству иммуноглобулинов), с участием Т-лимфоцитов (определение их количества аналогично определению количества В-лимфоцитов, определение их функциональной активности – при стимуляции: или по уровню продукции цитокинов или в реакции бласттрансформации лимфоцитов).

Общий принцип постановки аллергических проб



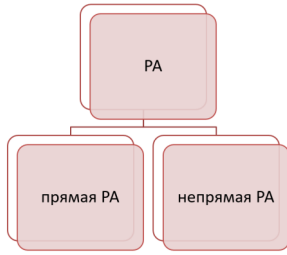
Общий принцип постановки аллергических проб

Аллергические пробы, т.е. пробы для выявления гиперчувствительности, ставят или in vivo (кожно-аллергические пробы) или in vitro (реакция торможения миграции лейкоцитов – пробирочный аналог кожно-аллергической пробы при ГЗТ).

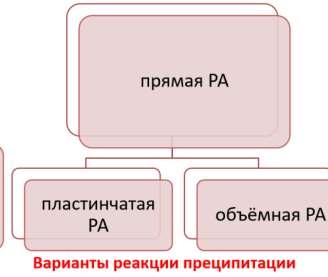
Варианты реакции агглютинации

Реакцию агглютинации ставят или в варианте прямой РА (пластинчатой или объёмной) или в варианте не прямой (латекс-агглютинация, коагглютинация, реакция не прямой агглютинации).

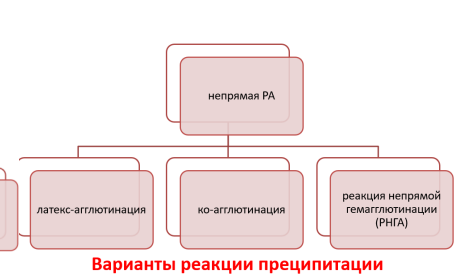
Варианты реакции агглютинации



Варианты реакции агглютинации

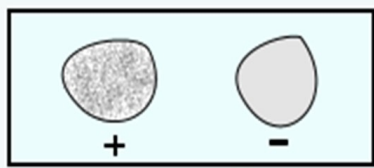
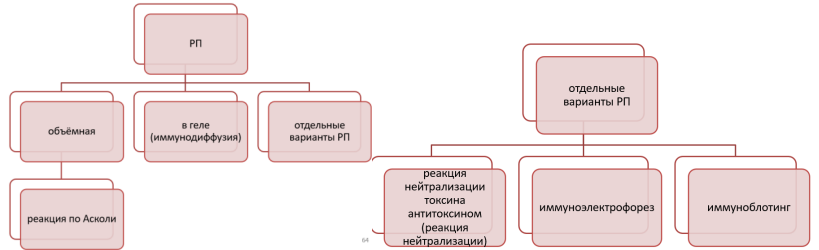


Варианты реакции агглютинации



Варианты реакции преципитации

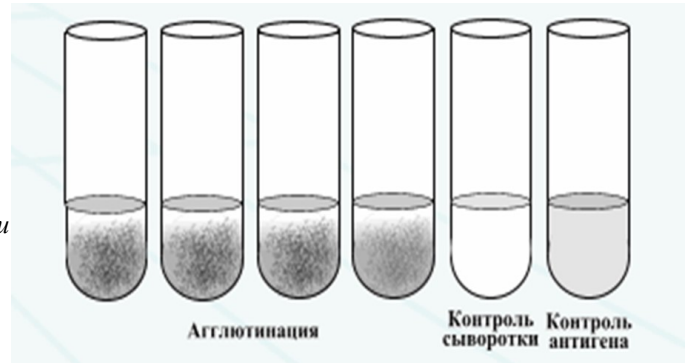
Реакцию преципитации ставят или как объёмную (например, реакция по Асколи) или в геле (иммунодиффузия); кроме того как отдельные варианты реакции преципитации рассматриваются реакция нейтрализации токсина анатоксином (реакция нейтрализации), иммуноэлектрофорез, иммуноблотинг.



Агглютинация положительная / Контроль (нет агглютинации)

Пластинчатая реакция агглютинации

Объёмная (развернутая) реакция агглютинации



Агглютинация / Контроль сыворотки / Контроль антигена

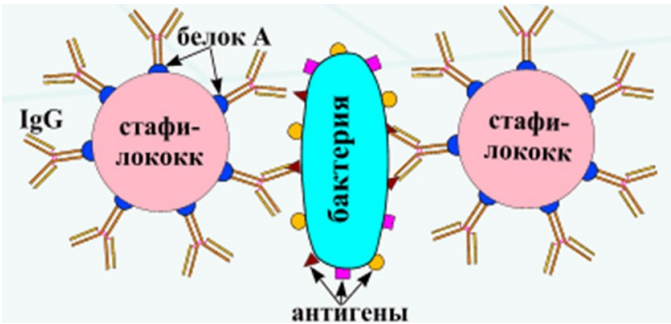
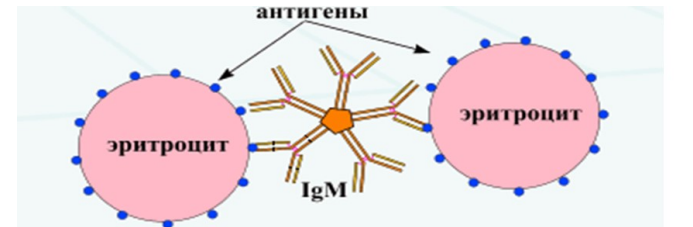


Схема реакции ко-агглютинации



Разведения сыворотки крови

1:20 1:40 1:80 1:160 1:320 1:640 Контроль



агглютинация / нет агглютинации

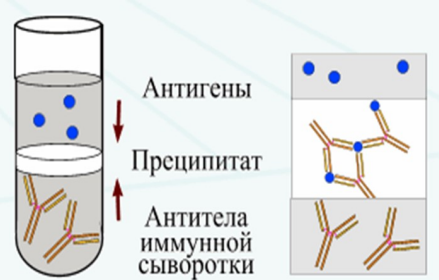


Схема реакция не прямой (пассивной) геммагглютинации

Схема реакции кольцепреципитации (по Асколи)

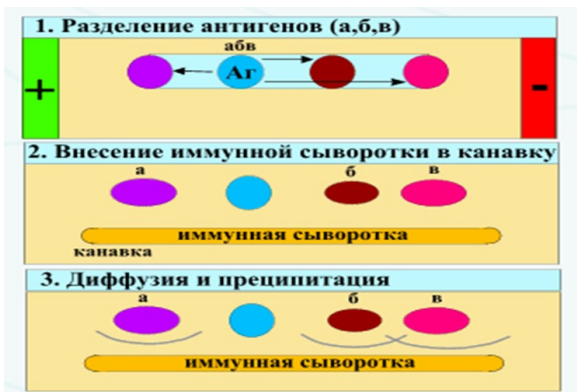


Схема иммуноэлектрофореза



Гель, содержащий антитела

Кольцо преципитации

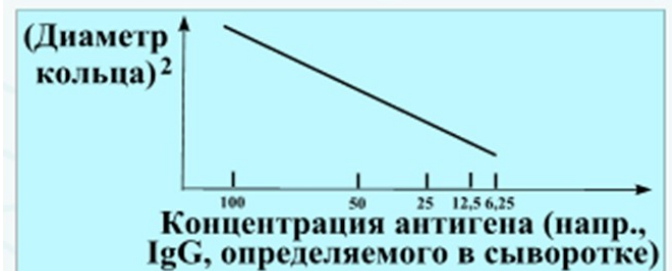
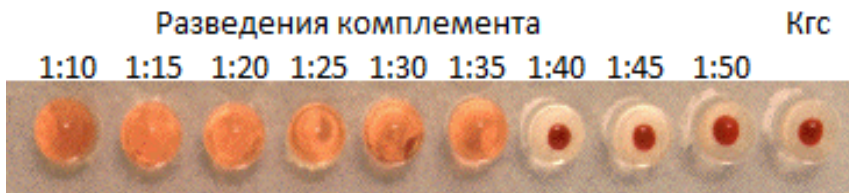
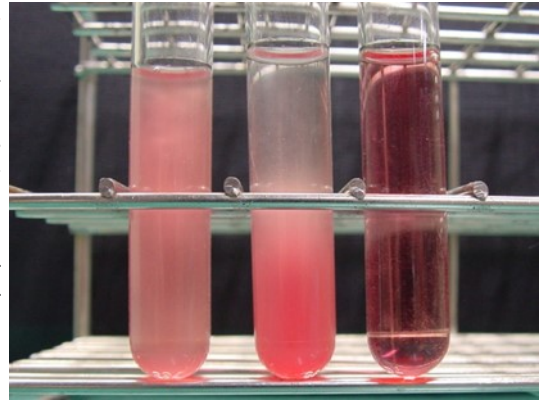


Схема реакции радиальной иммунодиффузии

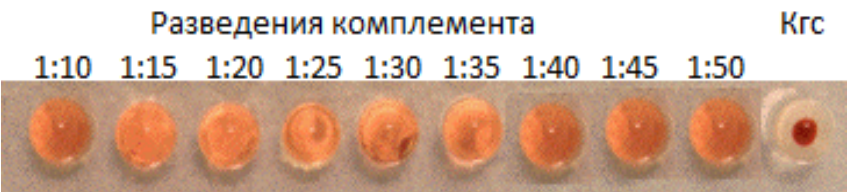
1. Определение активности системы комплемента (алгоритм проведения и оценка результата):

1. последовательное разведение раствора, содержащего комплемент (например, сыворотки крови);
2. добавление в каждое разведение гемсисемы (эритроцитов барана и инактивированной сыворотки кролика, иммунизированного эритроцитами барана);
3. термостатирование в течение 30 минут;
4. учёт реакции – титр (=активность) комплемента равен максимальному его разведению, в котором наблюдается гемолиз.

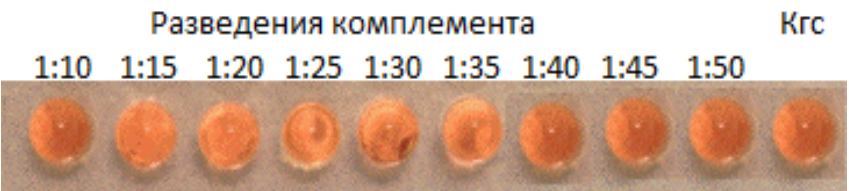
Феномен гемолиза (в пробирках): в двух левых пробирках гемолиз отсутствует, в правой – наблюдается гемолиз



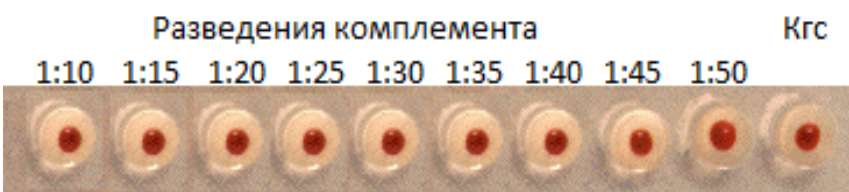
Титр комплемента (реакция поставлена в иммунологическом планшете) – 1:35 (Кгс – контроль гемсисемы)



Титр комплемента превышает значение 1:50; следует повторить реакцию, сделав большие разведения комплемента



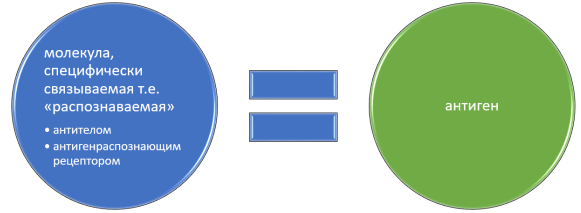
Реакцию учитывать нельзя – наблюдается спонтанный гемолиз гемсисемы; следует повторить реакцию, поменяв гемсисему



Титр комплемента меньше, чем 1:10; следует повторить реакцию, сделав меньшие разведения комплемента

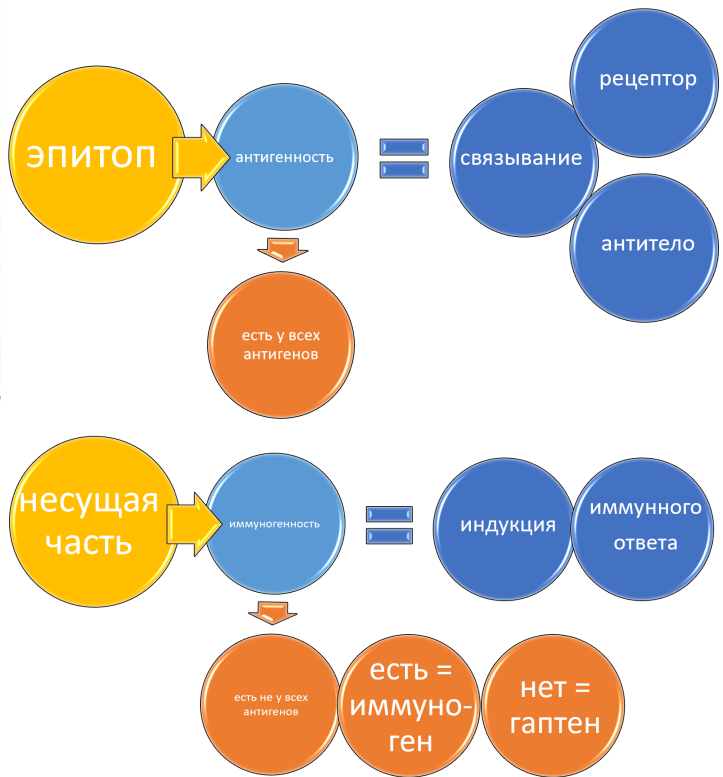
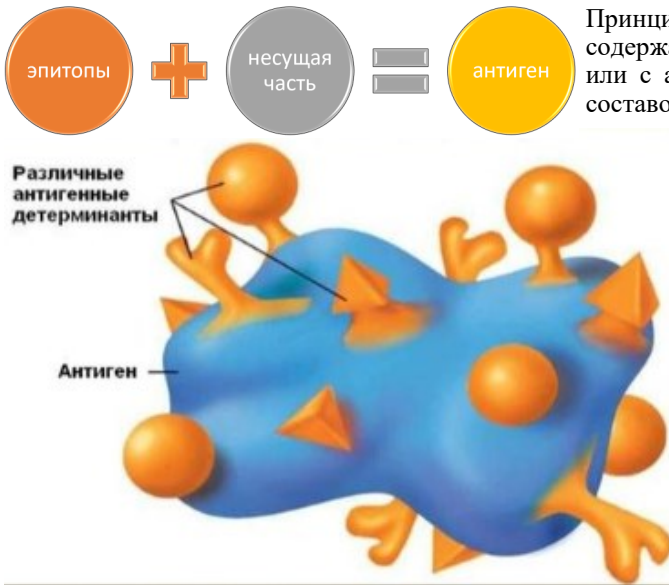
Антиген: определение

Термин «антиген» произошёл от английского выражения antibody generator, означающее «производитель антител» (**antibody generator** → antigen), и первоначально означал молекулу, в ответ на контакт с которой иммунная система запускает продукцию антител. Но позднее выяснилось, что иммунная система отвечает синтезом антител не на все антигены, а вот «распознаёт» их все. Поэтому и определение термина перенесли с побудительной причины синтеза антител на объект распознавания. И в настоящее время под антигеном понимают молекулу, которая специфически связывается с соответствующей молекулой иммунной системы – антителом или антигенраспознающим рецептором (событие, относящееся к первому звену иммунного ответа, за которым следует уничтожение антигена – эффекторное звено; иногда звено иммунного ответа, предшествующее эффекторному, называется аффекторным – в этом случае молекулы иммунной системы, «распознающие» антиген логично назвать аффекторными молекулами).



Антиген: принцип строения

Принцип строения антигена можно представить так: несущая часть, содержащая эпитопы. Последние являются «точками связывания» или с антигенраспознающим рецептором или с антигеном, так как составом своих молекул и их пространственным расположением полностью комплементарны специфическим антигенсвязывающим локусам последних.



Рисунок, иллюстрирующий наличие у антигена эпитопов (антигенных детерминант) различной специфичности (<https://i.pinimg.com/originals/9d/3f/2c/9d3f2cacfb3ebb0e26d08dfe816a54ef.jpg>)

Способность связываться с антигенраспознающим рецептором или с антителом называется антигенностью и присуща всем антигенам по определению, поскольку идентична самому определению антигена – молекула, лишённая эпитопов антигеном не является, поскольку не связывается в антигенраспознающим рецептором или антителом. Однако, вряд ли в окружающем нас мире можно отыскать такую молекулу – поскольку «технология» про-

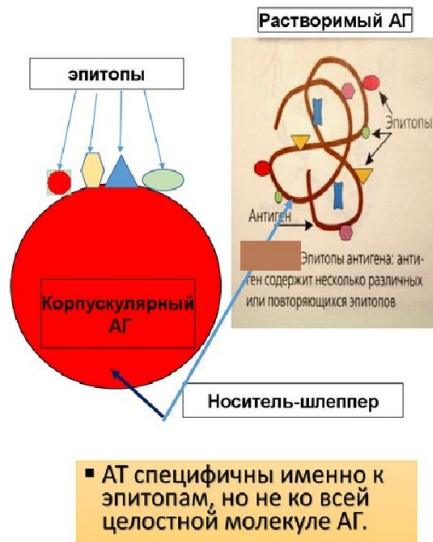
Строение антигена

состоит из 2-х частей

- высокомолекулярного носителя
- низкомолекулярной антиген-детерминантной группировки (эпитопа)

▪ **эпитоп**-участок молекулы АГ, обладающий способностью связываться с активным центром АТ или АГ-распознающим Re лимфоцита

▪ **Роль носителя:** стабилизация стереохимической структуры детерминанты в положении наиболее выгодном для соединения с рецепторной группой антитела



исхождения иммунокомпетентных клеток в центральном органе иммунной системы предполагает формирование их клонов с практически неограниченной специфичностью антигенраспознающих рецепторов.

Другими словами, с точки зрения философии иммунологии, любая молекула является антигеном. Однако, опять же с философской точки зрения, опосредует она это своё свойство только в процессе взаимодействия с иммунокомпетентной клеткой, обладающей антигенраспознающим рецептором, или с молекулой антитела.

Способность же индуцировать иммунный ответ присуща той части антигена, которая «несёт» на себе эпитопы, почему и называется несущей

(<https://cf.ppt-online.org/files/1/slide/r/RKpHjVcJQ7eC3u1Y85M9xPUwhqylivfBDs0bNtXak/slide-7.jpg>)

шей частью. Такая способность называется иммуногенностью.

В отличие от антигенности, иммуногенность отнюдь не является неотъемлемым свойством антигена, поскольку для индукции иммунного ответа несущая часть должна обладать определённым молекулярным весом. Если он недостаточен, антиген индуцировать иммунный ответ не сможет. Такой антиген называется гаптеном, в отличие от антигена, у которого с иммуногенностью всё в порядке – для обозначения последнего используют термин «иммуноген».

Несущая часть антигена, кстати, может даже отсутствовать – небольшие группы молекул могут представлять собой только эпитопы, обладая антигенностью, но напрочь лишённые иммуногенности.

В случае, если гаптен соединяется с какой-либо достаточно большой молекулой, как правило, белковой, то эта молекула, став для гаптена несущей частью, будет индуцировать иммунный ответ, направленный против этого гаптена. Такой белок называется «шлеппером» (от немецкого Schleppeг «буксир, тягач»). Впрочем, в современной иммунологии шлеппером называется молекула, являющаяся носителем антигенной детерминанты, т.е. этот термин выступает синонимом термину «несущая часть антигена».

Несущая часть антигена может иметь эпитопы разной специфичности, иммунный ответ в этом случае формируется отдельно для каждого эпитопа, поскольку развивается в результате активации разных клонов иммунокомпетентных клеток.

Эпитоп и его количественный состав

Участок молекулы антигена специфического состава и конфигурации, содержит от 5-6 до трёх десятков аминокислотных (для белков) остатков. Эпитопы могут быть линейными и конформационными, специфичность последних обусловлена не только составом, но и пространственной организацией. Подавляющее количество эпитопов (90%) относится к конформационным.

Валентность антигена

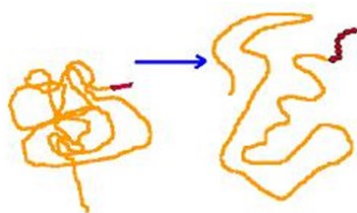
Под валентность антигена понимают количество идентичных эпитопов в его составе. Антиген может иметь разную валентность по разным из своих эпитопов.

Факторы, определяющие степень иммуногенности антигена

Степень иммуногенности антигена определяют следующие факторы:

- * физико-химические свойства антигена,
- * динамика поступления антигена в макроорганизм и катаболизм его во внутренней среде макроорганизма,
- * состояние макроорганизма в момент контакта с антигеном,
- * введение антигена в комплексе с адьювантом.

Физико-химические свойства антигена, влияющие на его иммуногенность



Рисунок, иллюстрирующий изменение специфичности глобулярного антигена при денатурации вследствие распада конформационного эпитопа (внизу); линейные эпитопы фибриллярного антигена (вверху) при денатурации не изменяются

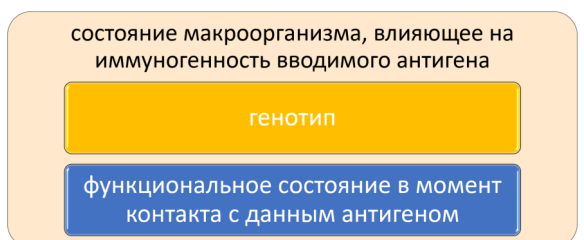
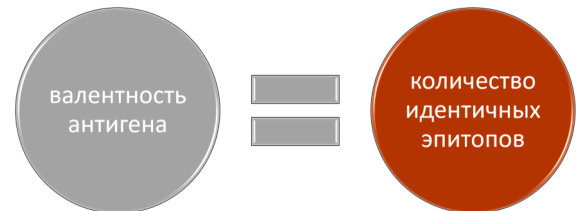
Степень иммуногенности антигена зависит от его чужеродности, химической природы, химического состава, молекулярной массы, пространственной организации, для растворимых антигенов – растворимости.

Динамика поступления и катаболизма антигенов, влияющие на его иммуногенность

Степень иммуногенности антигена зависит от способа его введения в макроорганизм, количества введённого антигена, дробности его введения, чувствительности антигена к катаболическому разрушению.

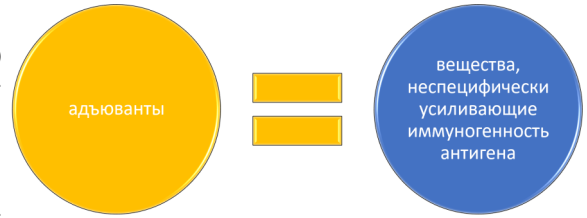
Зависимость иммуногенности антигенов от состояния макроорганизма

Высота иммунного ответа конкретного макроорганизма на конкретный антиген зависит как от генотипа данного макроорганизма, так и от его функционального состояния в момент контакта с данным антигеном.



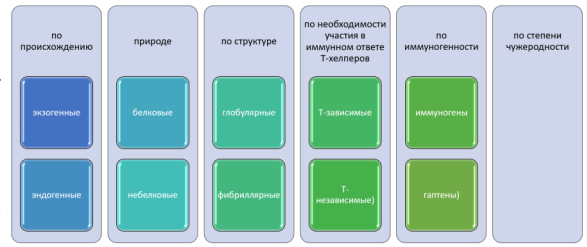
Адьюванты

Этим термином (от лат. adjuvantis «помогающий, поддерживающий») обозначают вещества, неспецифически усиливающие иммуногенность антигена.



Классификации антигенов

Антигены классифицируются по происхождению (экзогенные и эндогенные), по природе (белковые и небелковые), по структуре (глобулярные и фибриллярные), по необходимости участия в иммунном ответе Т-хелперов (Т-зависимые и Т-независимые), по иммуногенности (иммуногены и гаптены), по степени чужеродности.

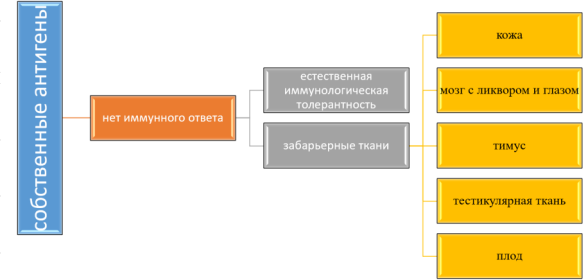


Аутоантигены

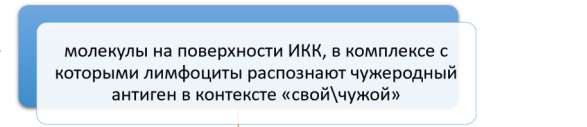
Аутоантигенами называются антигены тканей собственного организма.

В норме иммунный ответ к ним не развивается вследствие или естественной иммунологической толерантности (см. ниже) или нахождения за гистогематическим барьером, в результате чего их иммунная система как бы «не видит».

К последним относится кожа, мозг с ликвором и глазом, тимус, тестикулярная ткань у мужчин и плод при нормально протекающей беременности у женщин. Нарушение этого барьера в результате, например, травмы или инфекционного процесса может привести к аутоиммунной реакции, когда иммунитет начнёт отторгать собственные ткани.

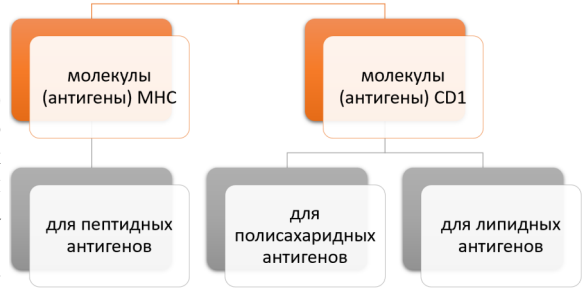


То же самое происходит и с другими тканями организма, не относящимися к «забарьерным» при нарушении естественной иммунологической толерантности (см. ниже).



Антигенпредставляющие молекулы: общая характеристика

Это те молекулы на поверхности иммунокомпетентных клеток, в комплексе с которыми лимфоциты распознают антиген: молекулы (антигены) МНС – для пептидных антигенов и молекулы (антигены) CD1 – для полисахаридных и липидных антигенов; так как основную роль в индукции иммунного ответа играют пептидные антигены (как наиболее иммуногенные), то основными антигенпредставляющими молекулами являются антигены МНС (антигены главного комплекса гистосовместимости).



Все клетки, имеющие ядро, обладают МНС антигенами первого класса (см. ниже) и могут представлять («презентировать») антиген. Клетки, которые имеют ещё и МНС антигены второго класса с соответствующим набором и рецепторы опознавания паттернов относятся к профессиональным антигенпрезентирующим клеткам (АПК).

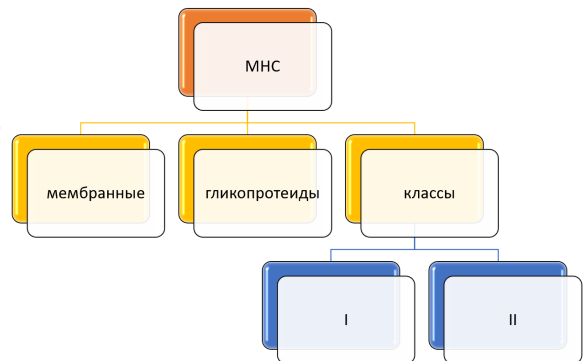


Таковыми свойствами обладают дендритные клетки, макрофаги и В-лимфоциты.

Профессиональные антигенпрезентирующие клетки могут также представлять антигены небелковой природы с помощью антигенпрезентирующей молекулы CD1.



Ведущую роль в адаптивном иммунном ответе играют профессиональные АПК.



Антигены главного комплекса гистосовместимости: общее понятие

Представляют собой мембранные гликопротеины, представленные двумя классами: МНС-I и МНС-II.

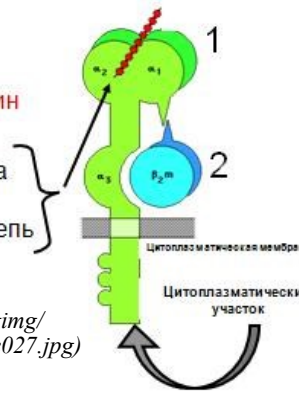
МНС-I

Экспрессированны на всех ядросодержащих клетках, состоят из двух полипептидных цепей, одна из которых (тяжёлая) «заякоревается» в цитоплазматической мембране антигенпредставляющей клетки, имея цитоплазматический участок, и формирует углубление, куда помещается процессированный антиген, вторая полипептидная цепь (лёгкая), ковалентно

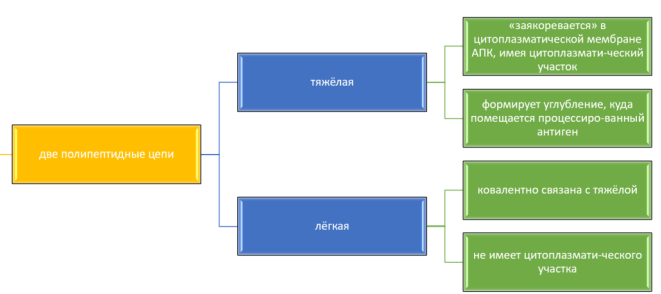
- тяжелая полипептидная цепь → α-цепь
- легкая → β2-микрोगлобулин

углубление (cleft) для пептида (8-10 аминокислотных остатков) формирует α-цепь

(<https://konspekta.net/leksiiorgimg/baza12/4034598208593.files/image027.jpg>)



состав МНС-I



связанная с первой, не имеет цитоплазматического участка; используются для представления антигена CD8-лимфоцитам.

МНС-II

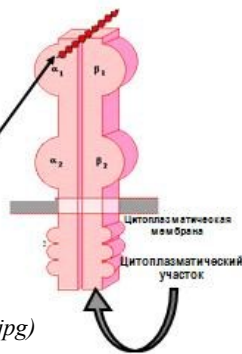
Экспрессированы на профессиональных антигенпредставляющих (для Т-хелперов) клетках (макрофагах, дендритных клетках, В-лимфоцитах) и клетках эндотелия сосудов; представляют собой две одинаковые полипептидные цепи, «заякоренные» в цитоплазматической мембране и имеющие углубление для процессированного антигена формируется между этих двух цепей; используются для представления антигена CD4-лимфоцитам.

две примерно одинаковые полипептидные цепи

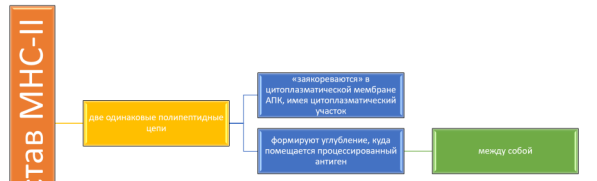
- α-цепь
- β-цепь

углубление (cleft) для пептида (до 30 аминокислотных остатков) формируют обе цепи

(https://studfile.net/html/2706/987/html_zJDKjNvGA7.VRUY/img-nMr5Sn.jpg)



функция МНС-I — антигена CD8-лимфоцитам



функция МНС-II — антигена CD4-лимфоцитам

по структуре схожи с МНС-I

лимоидных, нелимоидных

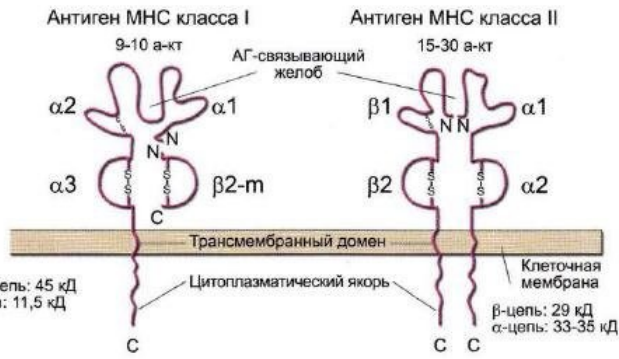
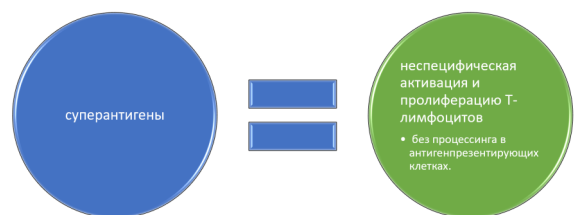


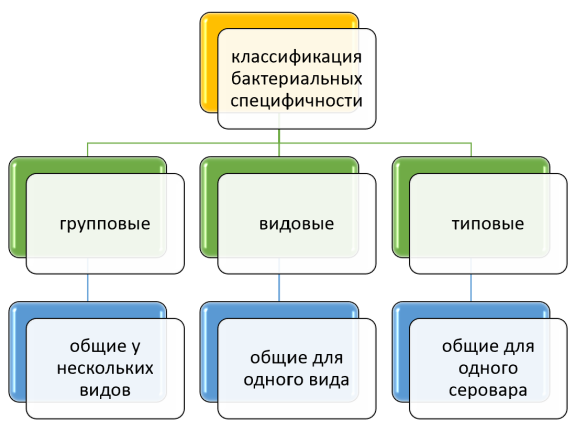
Схема строения антигенов главного комплекса гистосовместимости (МНС) классов I и II

(http://worldgonesour.ru/uploads/posts/2015-10/1445760315_r8.jpeg)

представляющие молекулы CD1

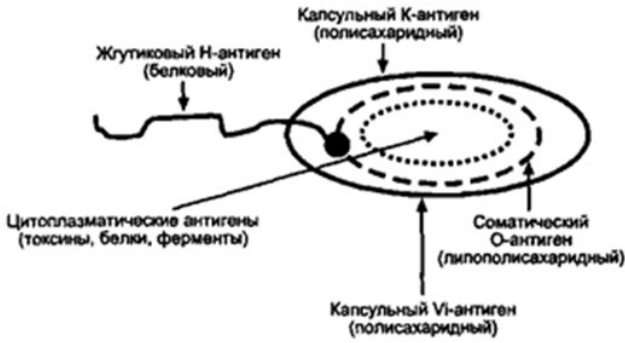
Мембранные гликопротеины, по структуре схожие с МНС-I,

экспрессированы на многих лимфоидных и не лимфоидных клетках.



Суперантигены

Антигены, вызывающие неспецифическую активацию и пролиферацию



Основные антигены бактериальной клетки
 (https://studfile.net/html/2353/410/html_JWQsBNsetU.Tajs/img-4fi2bw.png)

жгутиков).

Антигены, продуцируемые микробной клеткой в процессе своего метаболизма

К ним относятся белковые токсины, ферменты (в том числе – ферменты вирулентности).

Антигенные свойства грибов

Антигенный состав грибов крайне гетерогенен, грибная клетка содержит многие десятки и даже сотни антигенов.

Основные этапы клеточного иммунного ответа

Основные этапы клеточного иммунного ответа следующие:

- ⇒ взаимодействие с антигеном антигенпрезентирующей клетки,
- ⇒ процессинг в ней антигена,
- ⇒ презентация процессированного антигена CD4-лимфоциту,
- ⇒ активация Т-хелпера первого типа и синтез им активационных цитокинов (прежде всего – ИЛ-2),
- ⇒ активация интерлейкином-2
 - ⇒ соответствующего клона Т-киллера
 - ⇒ и лейкоцитов воспалительной реакции,
- ⇒ эффекторное звено
 - ⇒ (уничтожение чужеродного антигена Т-киллерами
 - ⇒ и в ходе иммунного воспаления),
- ⇒ в случае элиминации чужеродного антигена – завершающие процессы
 - ⇒ (супрессия иммунного ответа
 - ⇒ и появление клеток иммунологической памяти).

Роль костимулирующих молекул в активации Т-лимфоцитов

Сигнала от связывания антигенраспознающего рецептора с презентированным комплексом антиген-МНС при участии CD4/CD8 совершенно недостаточно для активации Т-лимфоцита, это всего лишь один из трёх основных сигналов активации. Более того, отсутствие дальнейших сигналов переведёт Т-лимфоцит в состояние анергии.

Под анергией в иммунологии понимают такое состояние лимфоцита, когда он перестаёт реагировать на свой специфический антиген. Анергия, наряду с клональной делецией (гибелью или блокадой клона) и иммунорегуляцией, служит механизмом развития иммунологической толерантности, т.е. отсутствия иммунного ответа на конкретный антиген.

В процессе презентации антигена важна также роль рецепторов опознавания паттернов. До встречи с антигеном экспрессия МНС на поверхности дендритной клетки (основной АПК) находится на очень низком уровне и только после взаимодействия рецепторов опознавания паттернов на по-

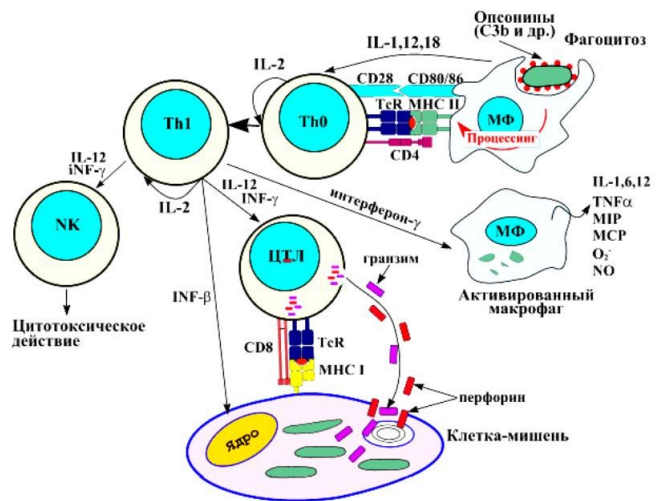
Т-лимфоцитов без процессинга в антигенпрезентирующих клетках.

Антигены бактерий: классификации по специфичности и по природе (происхождению)

Антигены бактерий классифицируются по специфичности (групповые – общие у нескольких видов, видовые – общие для одного вида, типовые – общие для одного серовара) и по природе (продукты распада – принадлежащие клеточным структурам бактериальной клетки, продукты жизнедеятельности бактериальной клетки).

Антигены, входящие в состав органелл бактериальной клетки

В состав клеточных структур бактериальной клетки входят, например, следующие антигены: О-Аг (антиген клеточной стенки), К-Аг и Vi-Аг (антигены капсулы), Н-Аг (антиген



(<https://cf.ppt-online.org/files/slide/n/5n0BcWf6dGCKDrqEiZejuxoP3Xygoa2UbN9QzM/slide-61.jpg>)

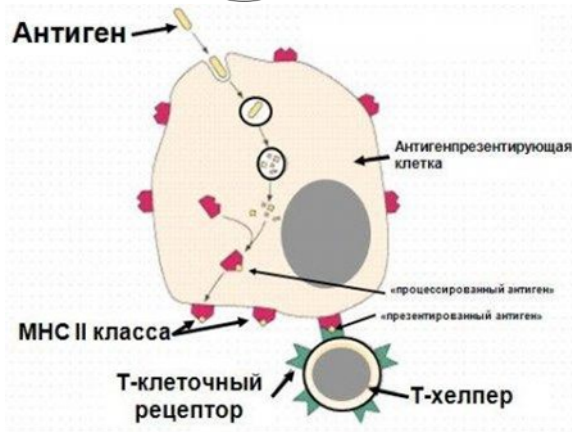
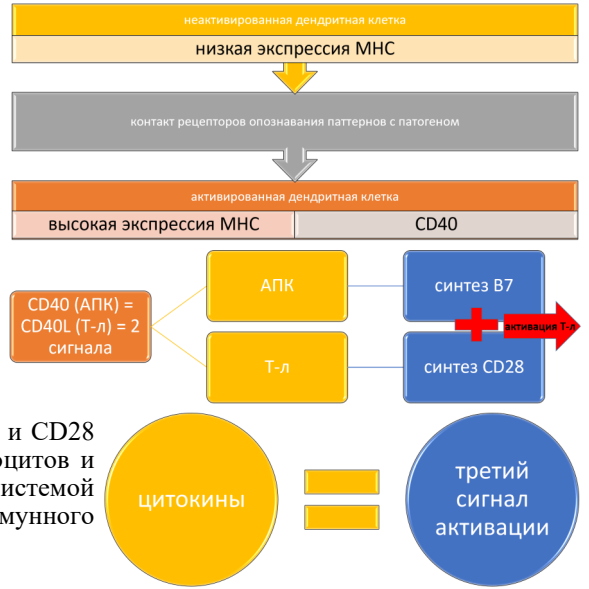
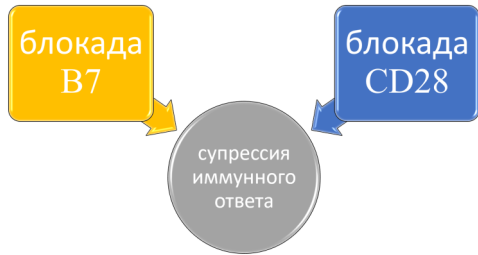


верхности дендритной клетки со своими лигандами на поверхности микроба происходит активация дендритной клетки, запускается процесс фагоцитоза ею патогена и экспрессия на её мембране высокого уровня антигенов МНС.

Также на поверхности активированной дендритной клетки синтезируется молекула CD40, которая связывается со своим лигандом CD40L (CD154) Т-лимфоцита. Связь CD40/CD40L запускает два сигнала: для АПК и для Т-лимфоцита. АПК получает сигнал для синтеза белка В7, а Т-лимфоцит получает сигнал о необходимости экспрессии лиганда для белка В7 – молекулы CD28. Именно взаимодействие В7-CD28 активирует Т-лимфоцит (второй сигнал активации).

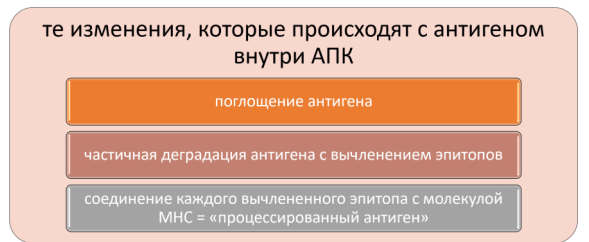
Третьим сигналом активации служат цитокины, вырабатываемые всеми клетками, участвующими в иммунном ответе.

Блокада двух описанных корецепторных молекул В7 и CD28 ведёт к супрессии Т-лимфоцитов и используется иммунной системой на последней стадии иммунного ответа для его завершения.



Процессинг антигена

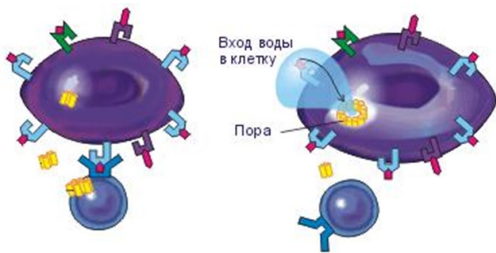
Этим термином обозначаются те изменения, которые происходят с антигеном внутри антигенпрезентирующей клетки: поглощение антигена, его частичная деградация с вычленением эпитопов, соединение каждого вычлененного эпитопа с молекулой МНС (так называемый процессированный антиген).



(<https://cf2.ppt-online.org/files2/slide/c/cxKgvEz35MOobVL0HeU4qBYjsNTykpGQmrZhSJ/slide-36.jpg>)

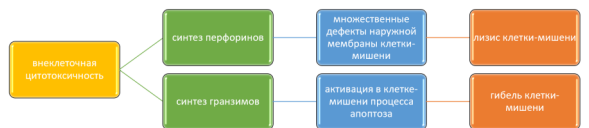
Презентация антигена

Этим термином обозначается вывод комплекса [эпитоп + МНС] (так называемого презентируемого антигена) на внешнюю мембрану антигенпрезентирующей клетки.



Механизмы действия ЦТЛ (Т-киллеров)

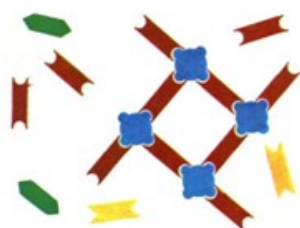
Цитотоксические лимфоциты осуществляют внеклеточную цитотоксичность.



(https://studfile.net/html/2706/987/html_UkUaPCMEml.O02Q/img-14bWM6.jpg)

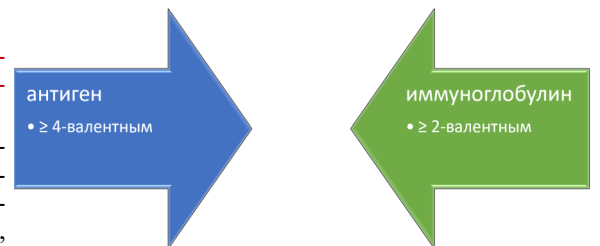
мишени процесс апоптоза. Другими словами, механизмы внеклеточной цитотоксичности ЦТЛ аналогичны механизмам внеклеточной цитотоксичности НК-клеток (см. выше).

Реакция Аг+Ат



Условия осуществления реакции агглютинации

Для осуществления реакции агглютинации необходимо, чтобы антиген, в ней участвующий, был не менее, чем четырёхвалентным, а иммуноглобулин – не менее, чем двухвалентным.



(https://s0.slide-share.ru/s_slide/4c8a232676ebb06427d67379fc4f4990/058ef644-d2a9-4210-a63a-708bbe6ee1cd.jpeg)

Реакция агглютинации: основные термины

Антиген, участвующий в реакции агглютинации, называется агглютиноген, антитело – агглютинин, образующийся в результате реакции агглютинации иммунный комплекс (т.е. комплекс антиген-антитело) – агглютинат.

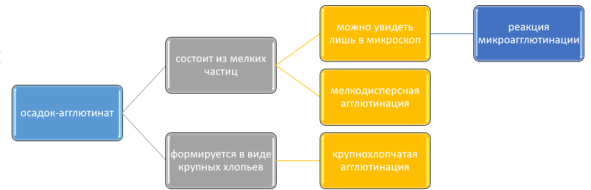
Этапы (стадии) реакции агглютинации

Реакция агглютинации протекает в два этапа (две стадии): сначала происходит формирования решётки (каркаса), в узлах которой располагаются антигены, а антитела играют роль «прутьев» этой решётки, связывая антигены друг с другом (эта стадия – невидимая), затем решётка выпадает в осадок (реакция становится видимой).



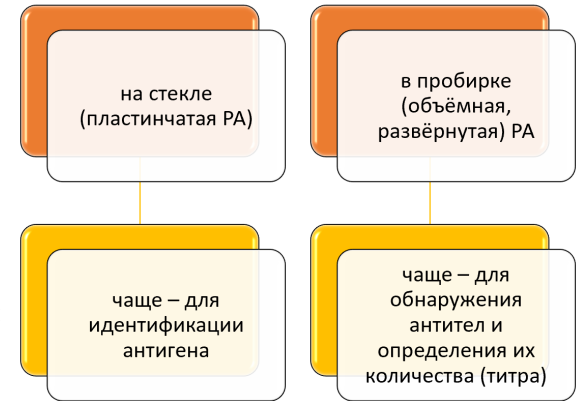
Внешние проявления реакции агглютинации

Осадок-агглютинат может состоять из мелких частиц (иногда настолько мелких, что их можно увидеть только в микроскоп – в этом случае речь идёт о реакции микроагглютинации), а может формироваться в виде крупных хлопьев, как это бывает, например, при агглютинации жгутиконосных бактерий; в первом случае говорят о мелкодисперсной агглютинации, во втором – о крупнохлопчатой.

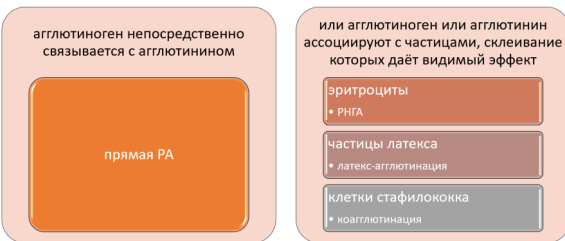


Способы постановки реакции агглютинации

Реакцию агглютинации можно ставить на стекле (пластинчатая реакция агглютинации) – такая реакция чаще используется для идентификации антигена; реакция агглютинации, которую ставят в пробирке, носит название объёмной, или развернутой, агглютинации – она используется для обнаружения антител и определения их количество (титра).



Принципы осуществления реакции агглютинации

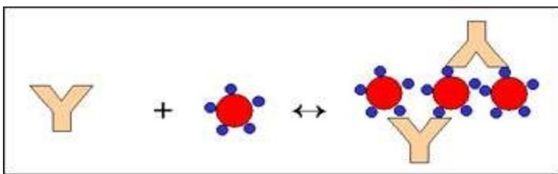


Если агглютиноген непосредственно связывается с агглютинином, то такая реакция называется прямой реакцией агглютинации; но в ряде случаев образующийся при этом агглютинат не виден – чтобы его визуализировать, ставят непрямую реакцию агглютинации: или агглютинин или агглютиноген ассоциируют с частицами, склеивание которых сопровождается видимым эффектом (в качестве таких частиц используют эритроциты – реакция не прямой гемагглютинации, частицы латекса – латекс-агглютинация, клетки стафилококка – коагглютинация).

частицы – реакция не прямой гемагглютинации, частицы латекса – латекс-агглютинация, клетки стафилококка – коагглютинация).

Реакция не прямой гемагглютинации

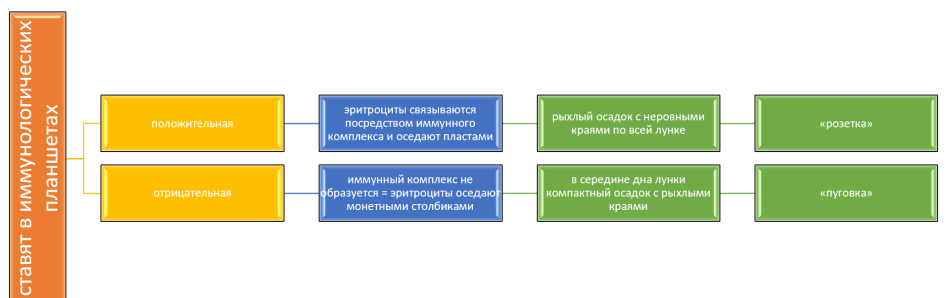
РНГА применяют в двух вариантах: с известными антигеном для обнаружения **антител** или с известными антителами для выявления **антигена**. Для постановки РНГА используют **эритроцитарные диагностикумы**, приготовленные путем адсорбции на эритроцитах антигенов или антител в зависимости от цели исследования.



(<https://cf.ppt-online.org/files/slide/y/YPeQHfkWBjuVo9Eis1pF24Db7GdnT3AKINIXC/slide-97.jpg>)

Внешние проявления РНГА

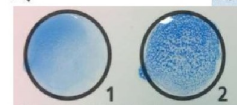
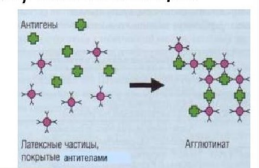
Реакцию не прямой гемагглютинации ставят в иммунологических планшетах: в положительном случае эритроциты связываются друг с другом посредством формирования иммунного комплекса и оседают пластами, формируя рыхлый осадок с неровными краями по всему дну лунки (осадок в виде «розетки»); если иммунный комплекс не образуется, эритроциты осе-



ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИЯ



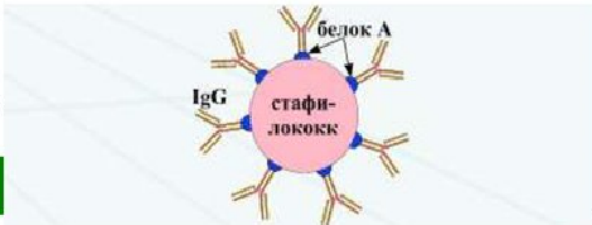
Вариант РНА, в которой частицы **латекса** с адсорбированными на них молекулами антигенов или антител агглютинируются соответствующими антигенами или антителами. Применяют качественный и количественный методы. Ставят по типу **агглютинации на стекле**.



(<https://cf.ppt-online.org/files/slide/i/img50423YXSUFk9KMIPR1vfOtLdAw6Z8HIENxj/slide-16.jpg>)

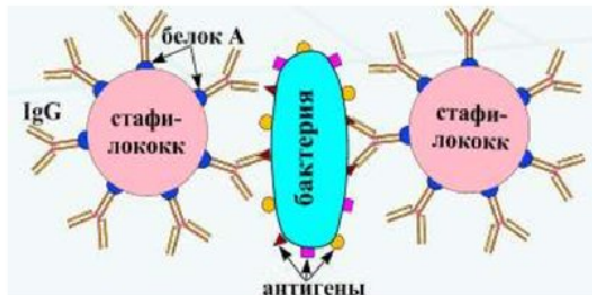
Реакцию коаггутинации применяют для определения антигенов с помощью антител, адсорбированных на белке А клеток стафилококка (антительный диагностикум).

Антительный диагностикум



Белок А имеет сродство к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, поэтому такие бактерии, обработанные иммунной диагностической сывороткой неспецифически адсорбируют антитела сыворотки, которые затем взаимодействуют активными центрами с соответствующими микробами, выделенными от больных. В результате коаггутинации образуются хлопья, состоящие из стафилококков, антител диагностической сыворотки и определяемого микроба.

Реакция коаггутинации



(https://myslide.ru/documents_7/d6fad5691462c099bc33a63054138011/img17.jpg)

дают монетными столбиками, формируя в середине дна лунки компактный осадок с ровными краями (осадок в виде «пуговки») (см. ниже «Учёт РНГА»).

Алгоритм выполнения практических навыков, приобретаемых на занятии

1. Проведение и учёт пластинчатой реакции агглютинации на стекле.

На предметное стекло наносят каплю диагностической сыворотки.

В ней гомогенизируют идентифицируемую культуру.

Учёт:

положительная реакция – формируется агглютинат;

отрицательная реакция – капля остаётся гомогенно-мутной.



Нанесение на предметное стекло диагностической сыворотки



Разведение в капле диагностической сыворотки идентифицируемой культуры до гомогенного состояния

Учёт реакции агглютинации на стекле (здесь и на всех фотографиях ниже: слева положительная реакция, справа – отрицательная)

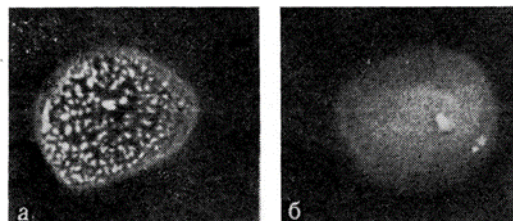
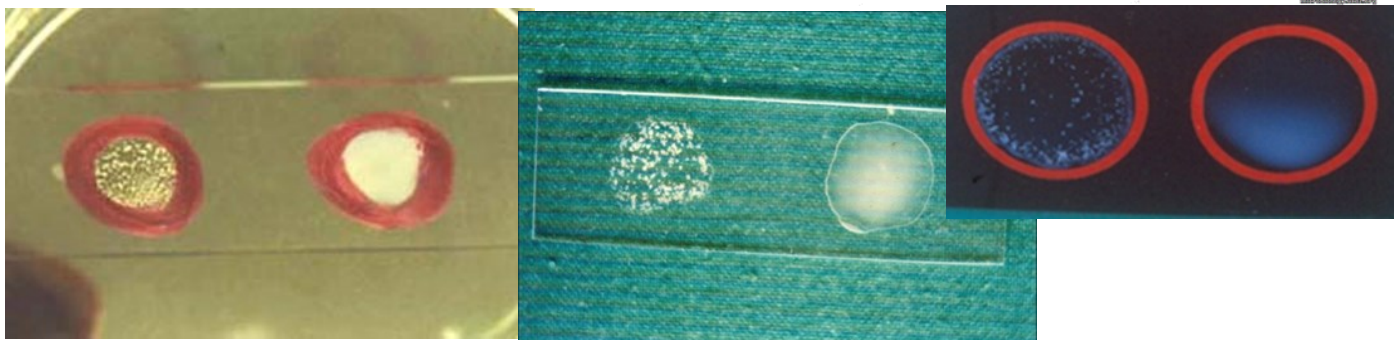
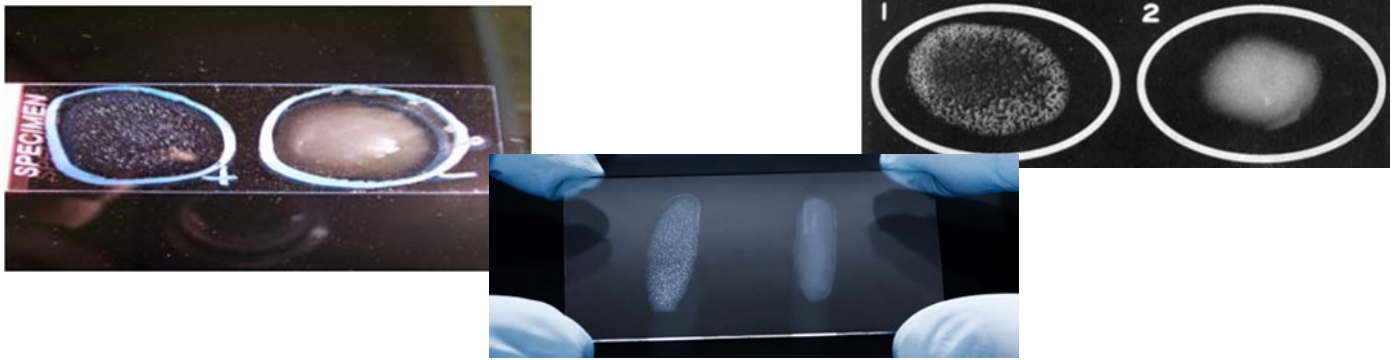


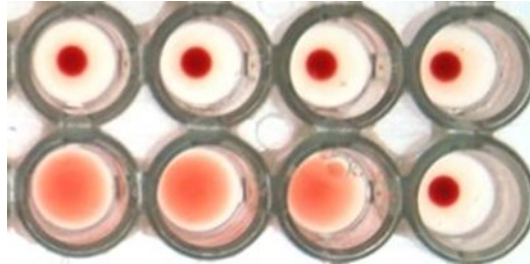
Рис. 35. Реакция агглютинации на предметном стекле. а – агглютинация; б – отсутствие агглютинации.



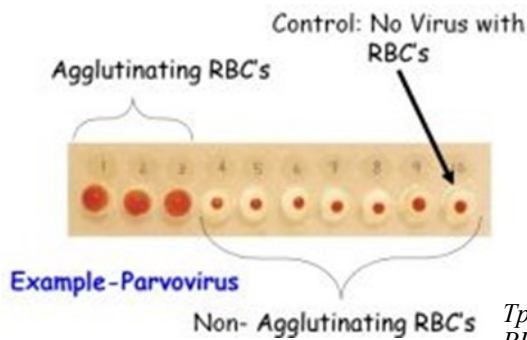


2. Учёт РНГА .

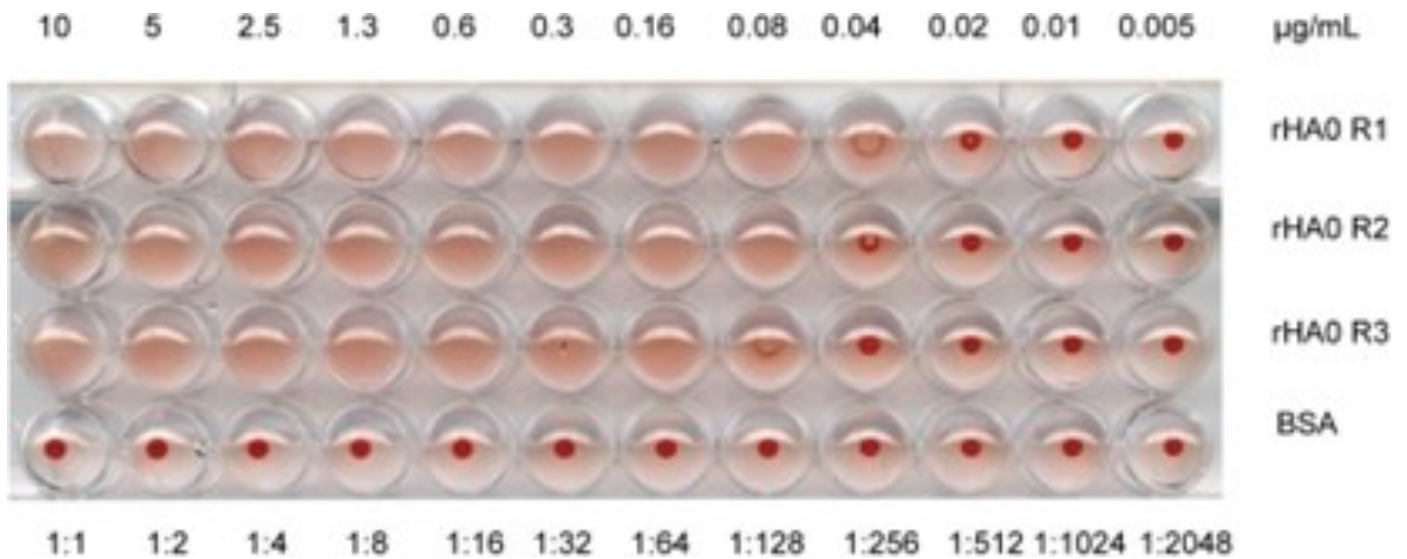
Учёт реакции непряой гемагглютинации.
 «розетка» – положительная,
 «пуговка» – отрицательная.



Верхний ряд лунок – во всех лунках отрицательная РНГА; нижний ряд – положительная РНГА в трёх лунках слева, в крайней правой лунке РНГА отрицательная



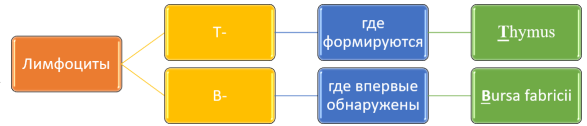
Три левые лунки – РНГА положительная; остальные опытные лунки – РНГА отрицательная; крайняя правая лунка контрольная – в взеси эритроцитов в отсутствии иммунного комплекса не наблюдается феномена гемагглютинации



Первый ряд сверху – РНГА положительная в титре 1:128;
 второй ряд сверху – РНГА положительная в титре 1:128;
 третий ряд сверху – РНГА положительная в титре 1:64;
 нижний ряд – РНГА отрицательная

В-лимфоциты

В отличие от Т-лимфоцитов, названных так по месту своего развития (лат. **Thymus** «тимус»), В-лимфоциты получили название по месту своего первого обнаружения – Фабрициевой сумки (лат. **Bursa fabricii**) у птиц.



Типы лимфоцитов по функциональным признакам



(<https://medportal.ru/pictures/article/e3c3d1a3-8aa7-42d0-8f07-feb2fbae8365/medium.jpg>)

У эмбриона В-лимфоциты образуются в печени и костном мозге. После рождения печень теряет эту функцию и единственным источником В-лимфоцитов остаётся костный мозг.

Созревание В-лимфоцитов сопровождается изменением класса иммуноглобулинов, формирующих антигенсвязывающий рецептор этих клеток. Если на клетках-предшественниках В-лимфоцитов BCR, а соответственно и мембранные иммуноглобулины, отсутствуют, то на незрелых В-лимфоцитах появляется антигенсвязывающий рецептор, состоящий из мембранной мономерной формы IgM. На зрелых В-лимфоцитах к ним добавляется BCR с мембранным IgD. После конечной дифференциации такой В-лимфоцит превращается в плазмочит, секретирующий антитела класса М. Другие клоны В-лимфоцитов в ходе дифференциации добавляют к этим двум видам антигенсвязывающего рецептора на своей мембране рецептор, состоящий или из IgA, или из IgG, или из IgE. Плазматические клетки, в которые дифференцируются такие лимфоциты, синтезируют, соответственно, IgA, или IgG, или IgE.

Основное назначение каждого из клонов В-лимфоцитов, несущих BCR конкретной специфичности – при контакте с причинным антигеном и стимуляции Т-хелпером (для тимус-зависимых антигенов; для тимус-независимых антигенов см. ниже) начать процессы активации, пролиферации и дифференциации в плазматические клетки, синтезирующие антитела, идентичные тем, которые формируют BCR (большая часть пролиферированного клона) и в клетки иммунологической памяти (меньшая его часть).

В организме В-лимфоциты выполняют следующие функции: синтез эффекторных молекул гуморального иммунного ответа (антител; терминально дифференцированные В-лимфоциты, называемые плазматическими клетками), презентация антигена, синтез цитокинов и выделение экзосом.

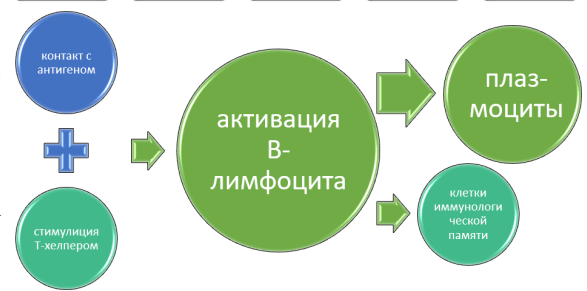
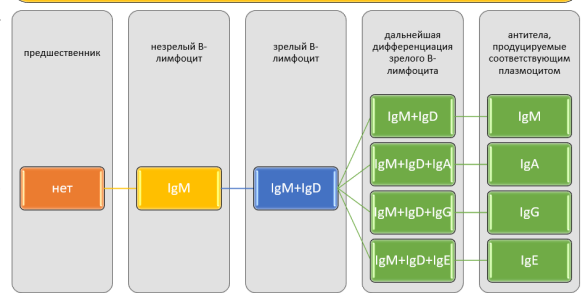
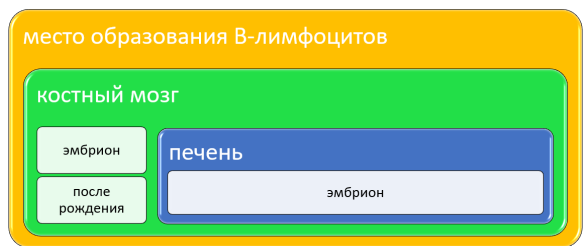
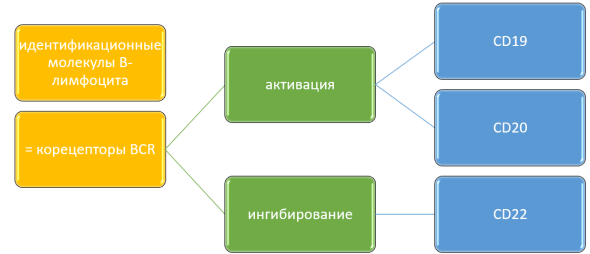


Плазматическая клетка, окрашенная гематоксилином и эозином, под оптическим микроскопом (<http://de.wikipedia.org/wiki/Bild:PBPlasmazelle.jpg>)

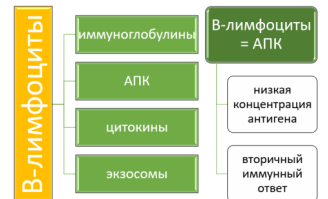
Как профессиональные антигенпрезентирующие клетки В-лимфоциты выступают в случае низкой концентрации антигена, а также при вторичном иммунном ответе.

Различают три типа зрелых В-лимфоцитов: собственно В-клетки («наивные» В-лимфоциты, неактивированные Т-хелперами), В-клетки иммунологической памяти (активированные Т-хелперами, но не дошедшие в свой дифференциации до стадии плазмочита; долгоживущие), плазматические клетки (короткоживущие – 2-3 дня – клетки, секретирующие антитела и быстро исчезающие после прекращения контакта с причинным антигеном).

В-лимфоциты идентифицируются по наличию корцепторных молекул В-клеточного антигенраспознающего рецептора: CD19, CD20 и CD22. Первые две из них играют роль активаторов BCR, а третья ингибирует его, останавливая передачу информационного сигнала.



Как профессиональные антигенпрезентирующие клетки В-лимфоциты выступают в случае низкой концентрации антигена, а также при вторичном иммунном ответе.



Особенности рецепторного аппарата плазмочита

Плазмочит практически лишён поверхностных рецепторных молекул (включая BCR и МНС-II), вследствие чего про-

дукция им антител (единственная функция плазмочита) фактически не зависит от внешних сигналов. Основным мембранным маркером этой клетки является молекула CD138, являющаяся белком семейства синдеканов, он обеспечивает связь плазмочита со стромальными клетками.

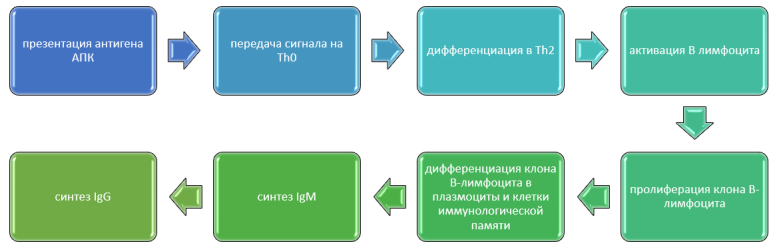
рецепторный аппарат плазмочита

• нет

BCR
MHC-II

есть

CD138 (синдекан 1) – связь со стромой

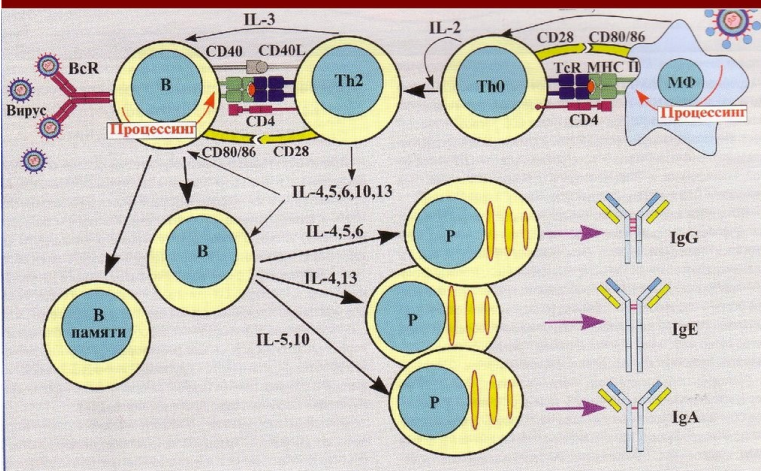


Активация В-лимфоцитов – гуморальный ответ на Т-зависимые антигены

Активация В-лимфоцитов, посредством которой и осуществляется гуморальный иммунный ответ, происходит под влиянием Т-хелперов второго типа, в которые дифференцируются нулевые («наивные» Т-хелперы) после представления им процессированного антигена антипрезентирующей клеткой. Т-хелпер второго типа продуцирует цитокины, регули-

рующие активацию, пролиферацию («экспансию клона») и дифференциацию В-клеток в плазмочиты, секретирующие антитела, и В-клетки иммунологической памяти. При этом плазматические клетки сначала секретируют IgM, после чего, вновь по сигналу от Т-хелперов, происходит переключение на синтез IgG и антител других классов.

Активация В – развитие гуморального иммунного ответа



Активация В-лимфоцитов – особенности гуморального иммунного ответа на Т-независимые антигены

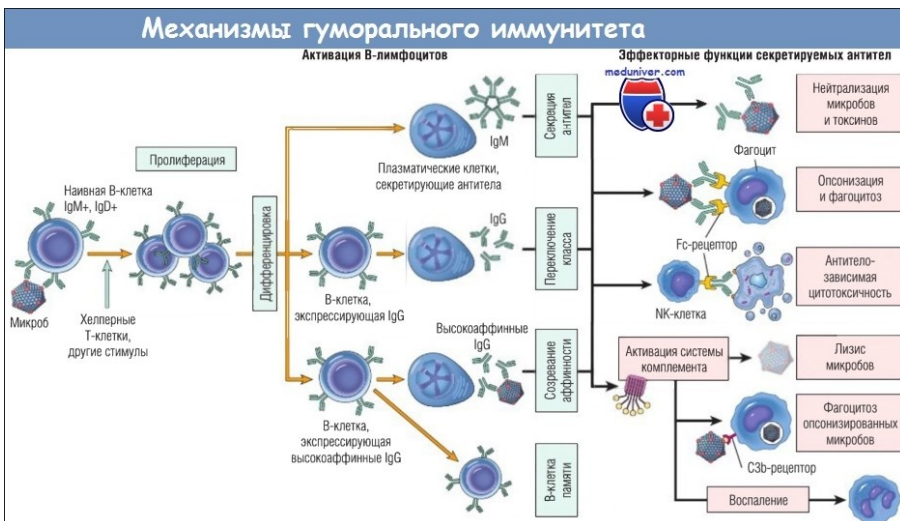
- распознавание и презентация антигена проводится самим В-лимфоцитом
- синтезируются только иммуноглобулины класса М
 - без переключения на синтез IgG
- не образуются клетки иммунологической памяти
 - вследствие чего не возможен вторичный иммунный ответ

(<https://thepresentation.ru/img/tmb/2/121279/25a1f12c50521fc1a33698df0e634495-800x.jpg>)

ти (вследствие чего не возможен вторичный иммунный ответ).

Механизмы эффекторного действия антител и их характеристика

Антитела (иммуноглобулины) осуществляют эффекторное звено гуморального иммунного ответа путём нейтрализации



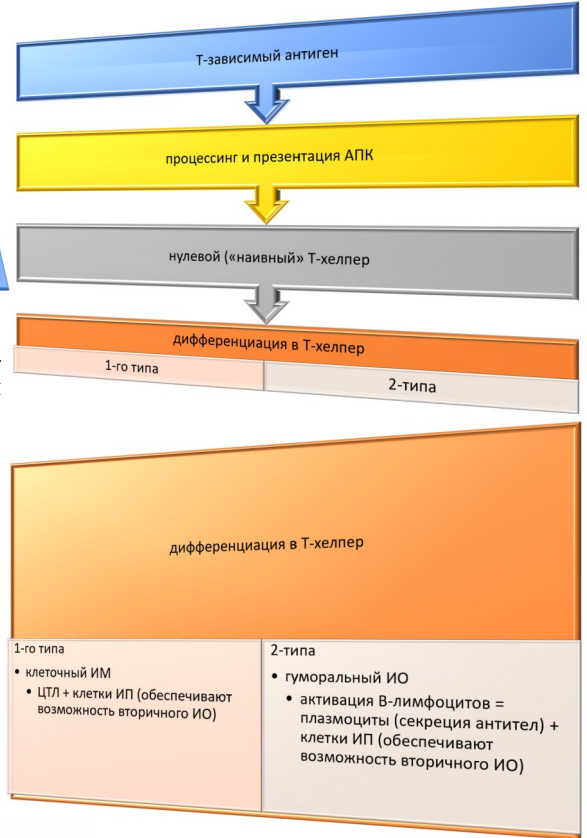
- нейтрализации
 - бактериальных токсинов
 - ферментов вирулентности
 - опсонизации
 - активации комплемента
 - антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ)
 - против клеток, несущих чужеродные антигены, с которыми на её поверхности реагируют антитела
- антигены (иммуноглобулины) осуществляют эффекторное звено гуморального иммунного ответа путём:
- если в иммунном комплексе на поверхности чужеродной клетки участвуют IgG, то такую клетку атакуют **НК-клетки**
 - порообразование перфорином
 - запуск апоптоза
 - если в иммунном комплексе на поверхности чужеродной клетки участвуют IgE или IgA (в случае, когда чужеродная клетка – гельминт), то такую клетку атакуют **эозинофилы**
 - развивается «эозинофильный воспалительный процесс» с образованием высокотоксичных протеинов, убивающих гельминтную клетку

(https://sk-news.ru/upload/iblock/737/200908_Gumoralnyy-immunitet.jpg)

на поверхности клеток, несущих чужеродный антиген, описанного выше механизма комплементзависимого лизиса), а также антителозависимой клеточной цитотоксичности; последняя осуществляется против клеток, несущих чужеродные антигены, с которыми на её поверхности реагируют антитела – в этом случае такую клетку атакуют или НК-клетки (в случае IgG) или эозинофилы (в случае IgE или IgA, это происходит тогда, когда чужеродная клетка является гельминтом): в первом случае НК-клетки уничтожают клетку-мишень путём порообразования перфорином или запуском апоптоза, во втором случае развивается так называемый «эозинофильный воспалительный процесс» с образованием высокотоксичных протеинов, убивающих гельминтную клетку.

Общая схема иммунного ответа

T-зависимый антиген процессирует и презентует нулевому (т.н. «наивному») T-хелперу антигенпрезентирующая клетка, если при этом нулевой («наивный») T-хелпер дифференцируется в T-хелпер первого типа, то формируется клеточный иммунный ответ с появлением цитотоксических лимфоцитов и клеток иммунологической памяти, обеспечивающих возможность вторичного иммунного ответа; если же нулевой («наивный») T-хелпер дифференцируется в T-хелпер второго типа, то формируется гуморальный иммунный ответ с активацией В-лимфоцитов, превращением их в клетки иммунологической памяти и плазматocytes, секретирующие антитела; в случае иммунного ответа на T-независимый антиген иммунный ответ ограничивается активацией В-лимфоцитов с дифференциацией их в плазматocytes, секретирующие антитела.

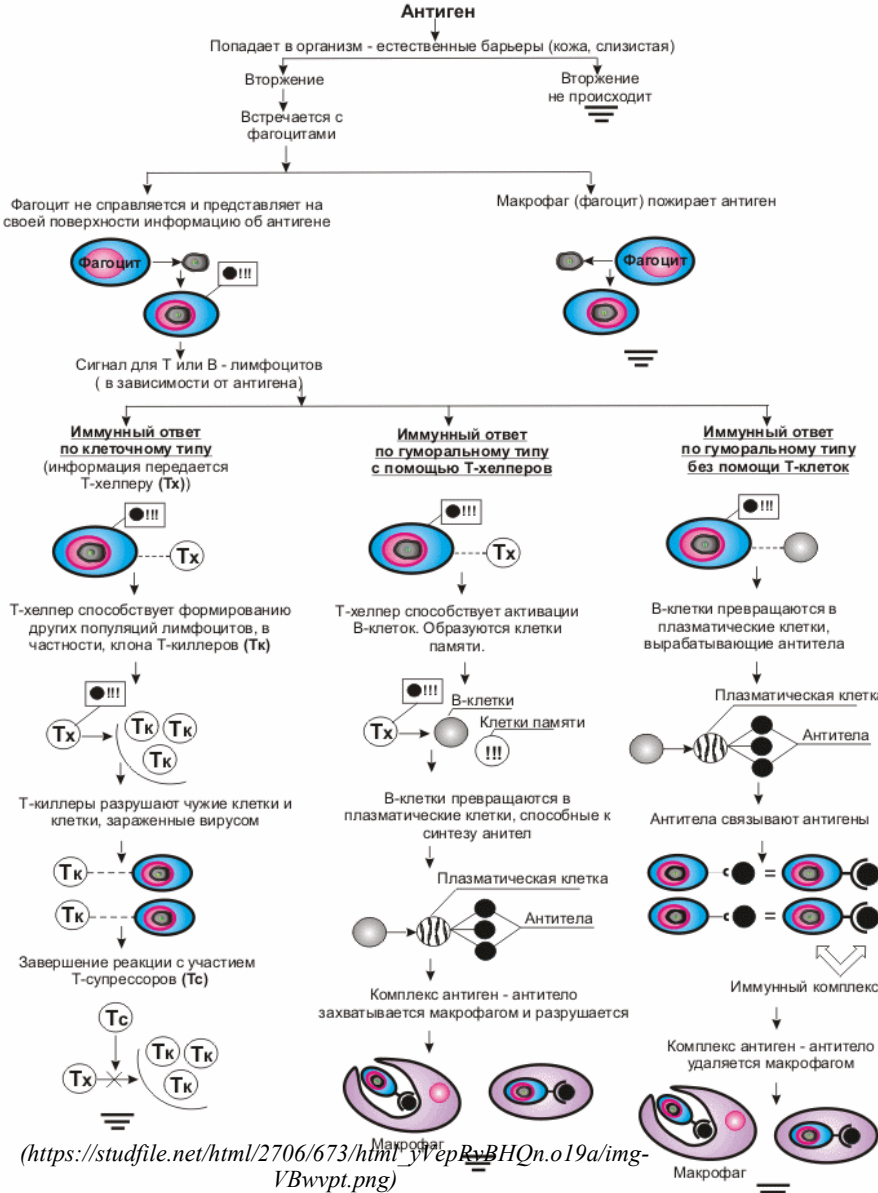


Супрессия иммунного ответа

Супрессия иммунного ответа достигается: элиминацией антигена и, следовательно, устранением фактора активации лимфоцитов, ограниченностью жизни терминально активированных лимфоцитов, действием особых T-киллеров, запускающих апоптоз в активированных T-лимфоцитах (т.н. T-супрессоры), гибелью в результате апоптоза активированных лейкоцитов, супрессией активности лейкоцитов цитокинами.

- элиминация антигена – устранение фактора активации лимфоцитов
- ограниченность жизни терминально активированных лимфоцитов
- действие особых T-киллеров (T-супрессоры)
 - запускают апоптоз в активированных T-лимфоцитах
- гибель в результате апоптоза активированных лейкоцитов
- супрессия активности лейкоцитов цитокинами

Схема иммунного ответа



Кооперативный механизм действия и регуляции иммунной системы

Кооперация и регуляция иммунной системы осуществляются как внутри самой иммунной системы (на уровне кооперации иммунокомпетентных клеток), так и на уровне организма (посредством межсистемной кооперации иммунной, нервной и гуморальной систем).



Определение термина «иммуноглобулин»

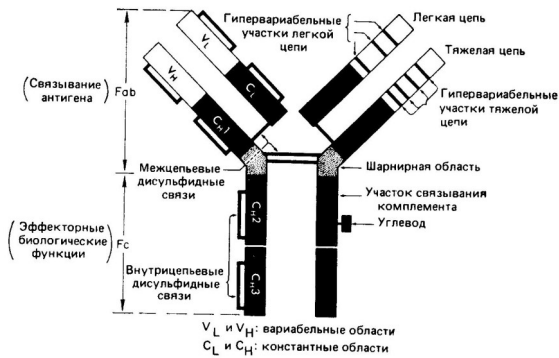
Гамма-глобулины сыворотки крови, способные специфически связываться с антигеном.

- гамма-глобулины сыворотки крови
- способные **специфически** связываться с антигеном

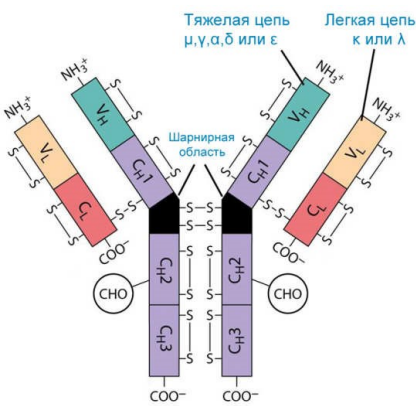
(https://studfile.net/html/2706/673/html_VVep_RvBHQn.o19a/img-VBwvpt.png)

Физическое состояние и формы существования иммуноглобулинов

Иммуноглобулины существуют в макроорганизме в двух формах: в растворимой, или секреторной, форме (в крови и в других биологических жидкостях) и в мембранной форме (в составе BCR), а также в связи с Fc-рецепторами клетки (как вне иммунный комплексов – IgE, так и в составе последних – иммуноглобулины других классов).

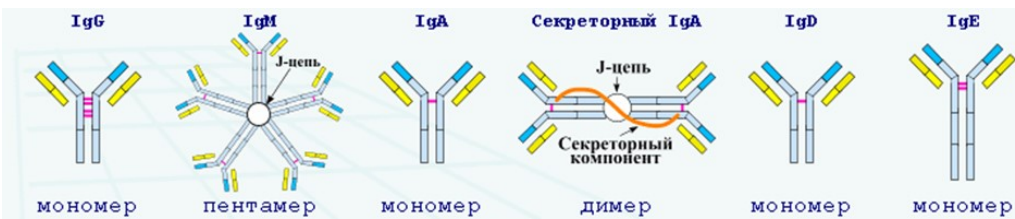


(<https://cf.ppt-online.org/files/slide/odK09c3GTq6VbeZPa7EAluOBiJh1Yf4xQl2Ls/slide-4.jpg>)



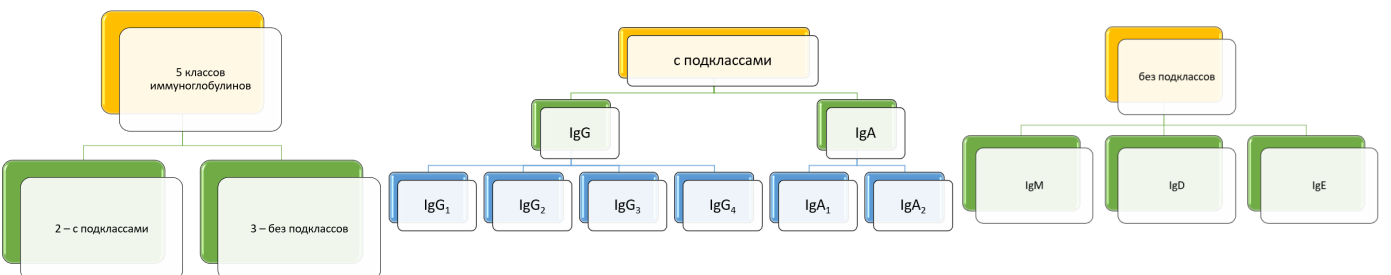
Варианты H- и L-цепей иммуноглобулинов
(https://slideplayer.com/11950300/67/images/slide_2.jpg)

единённых дисульфидными мостиками; полипептидные цепи представлены доменами (свёрнутыми в глобулу участками), чередующимися с линейными участками; крайние NH₃-домены каждой цепи составляют Fab-фрагмент, пространство между лёгкой и тяжёлой цепью которого формирует паратоп, определяющий (преимущественно – за счёт трёх гиперварибельных участков каждой цепи) специфичность данной молекулы иммуноглобулина для конкретного эпитопа антигена, все остальные домены обеих цепей формируют Fc-фрагмент молекулы иммуноглобулина.



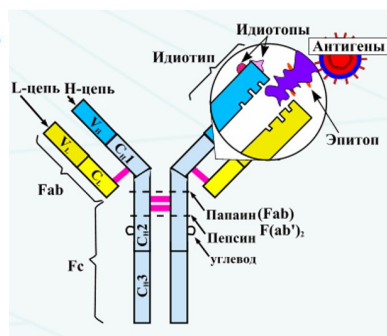
(https://studfile.net/html/1473/358/html_PutfwvMbZZ.gojV/img-eziXiq.png)

(подклассы IgA1, IgA2), IgM, IgD и IgE.



Структура иммуноглобулинов

Молекула иммуноглобулина состоит, как минимум, из четырёх полипептидных цепей (двух лёгких и двух тяжёлых), со-



(<https://drive.tiny.cloud/1/mpxctvrfs7bgdjjq4lp96063c8c19wp62cy7lingdkyij4ht/2b47b2ae-ad36-4e85-ba75-9472adfb407e>)

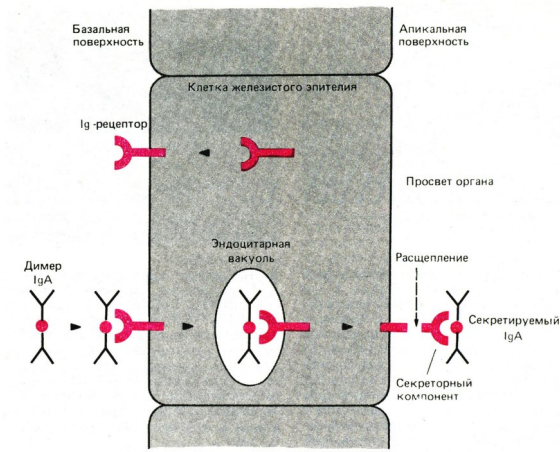


на.

Классификация иммуноглобулинов

Иммуноглобулины классифицируются на пять классов, два из которых содержат подклассы: IgG (подклассы IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA

Дополнительные полипептидные цепи иммуноглобулинов



- J-цепь**
 - соединяет мономеры иммуноглобулинов в единую полимерную молекулу
 - S-белок**
 - защищает секреторный вариант IgA – IgAs – от ферментативного расщепления в секретах слизистых оболочек
 - M-белок**
 - фиксирует рецепторный иммуноглобулин – в составе BCR – на мембране В-лимфоцита
- Некоторые классы и варианты иммуноглобулинов содержат, кроме двух лёгких и двух тяжёлых полипептидных цепей, дополнительные полипептидные цепи: J-цепь (соединяющую мономеры иммуноглобулинов в единую полимерную молекулу), S-белок (защищает

Механизм формирования S-белка (секреторного компонента) в составе IgAs
 (https://studfile.net/html/2706/310/html_jbVRq9lhul.RBvs/img-hMFdD3.jpg)

секреторный вариант IgA – IgAs – от ферментативного расщепления в секретах слизистых оболочек), M-белок (фиксирует рецепторный иммуноглобулин – в составе BCR – на мембране В-лимфоцита).

Валентность иммуноглобулинов

Под валентностью иммуноглобулина понимают количество действующих паратопов, которое содержит молекула соответствующего иммуноглобулина: у IgE – 1 (так как второй паратоп в его молекуле заблокирован), у остальных мономерных иммуноглобулинов – 2, у IgAs – 4, у IgM – 10.



Прохождение через плаценту иммуноглобулинов

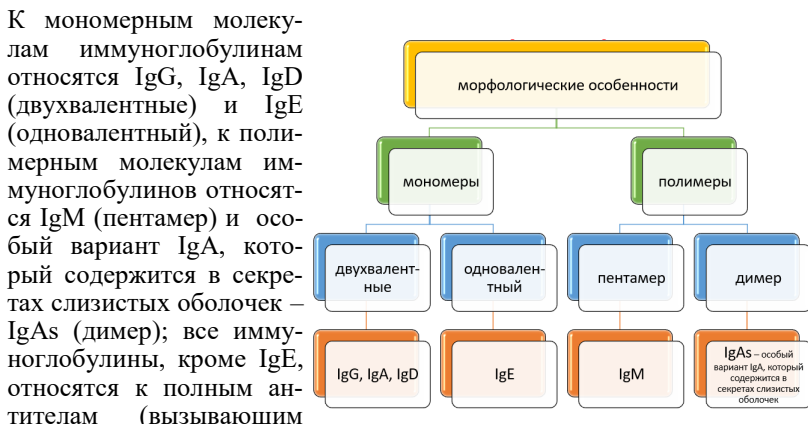
Через плаценту может проходить только IgG.

Основная функция различных классов иммуноглобулинов

Основная функция IgG – осуществление эффекторного звена вторичного иммунного ответа, IgAs ответственен за местный иммунитет слизистых оболочек (содержится в их секрете), IgM – иммуноглобулин первичного иммунного ответа, IgD формирует Ag-распознающий рецептор зрелых В-лимфоцитов, IgE – иммуноглобулин анафилактической реакции.

- IgG**
 - осуществление эффекторного звена вторичного иммунного ответа
- IgAs**
 - ответственен за местный иммунитет слизистых оболочек (содержится в их секрете)
- IgM**
 - иммуноглобулин первичного иммунного ответа
- IgD**
 - формирует Ag-распознающий рецептор зрелых В-лимфоцитов
- IgE**
 - иммуноглобулин анафилактической реакции

Морфофункциональные особенности иммуноглобулинов



- все иммуноглобулины, кроме IgE**
 - относятся к полным антителам
 - вызывающим видимые двухкомпонентные серологические реакции
- IgE**
 - является неполным антителом
 - в силу своей одновалентности – не вызывает видимых серологических реакций агглютинации и преципитации
 - такие антитела лишь блокируют антиген, но не связывают его в «решётку», вследствие чего называются «блокирующими» антителами

видимые двухкомпонентные серологические реакции), а IgE является неполным антителом, поскольку – в силу своей одновалентности – не вызывает видимых серологических реакций агглютинации и преципитации, такие антитела лишь блокируют антиген, но не связывают его в «решётку», вследствие чего называются «блокирующими» антителами.

Аффинность антител

Под аффинностью антител понимают прочность связи конкретной пары паратоп/эпитоп; наибольшей аффинностью обладают моноклональные антитела.

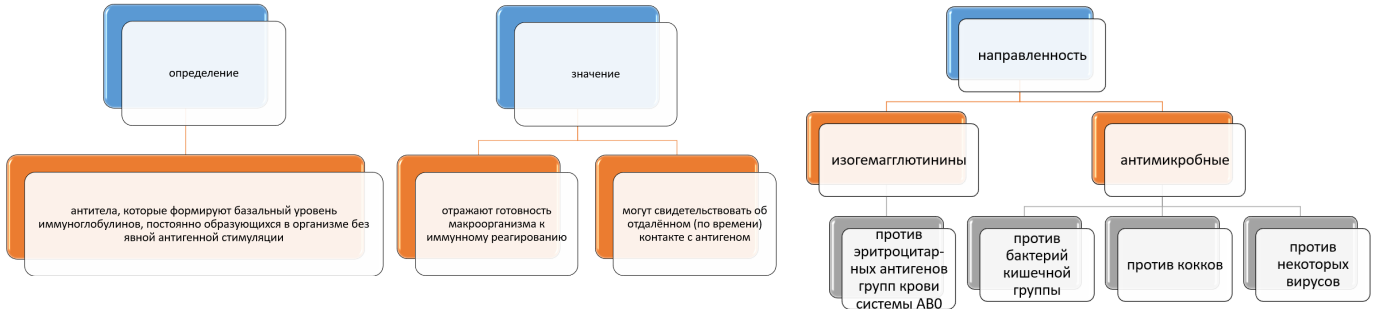
Авидность антител

Под авидностью понимают прочность связи молекулы антитела в целом с молекулой антигена в целом; наибольшая авидность – у IgM.



Нормальные антитела

Нормальными антителами называют те антитела, которые формируют базальный уровень иммуноглобулинов, постоянно образующихся в организме без явной антигенной стимуляции; нормальные антитела отражают готовность макроорганизма к иммунному реагированию, а также могут свидетельствовать об его отдалённом (по времени) контакте с антигеном; по своей направленности нормальные антитела представлены изоагглютинидами (антителами против эритроцитарных антигенов групп крови системы АВ0), антителами против бактерий кишечной группы, против кокков и против некоторых вирусов.

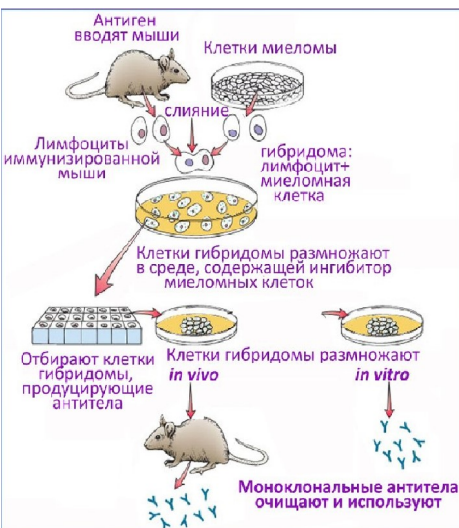


Моноклональные антитела

Моноклональными антителами называются антитела, продуцируемые одним клоном плазмочитов; их главное достоинство – высокая специфичность.

Получение моноклональных антител

Получают моноклональные антитела с помощью гибридной технологии:



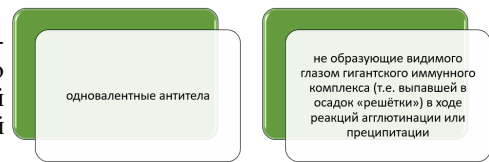
проводят слияние плазмочита с миеломными клетками, получая гибридомы (антителопродуцирующие раково-трансформированные клетки), которые затем размножают на искусственных питательных средах или в организме животных – антитела, продуцируемые такими клетками и являются моноклональными.



Принцип гибридной технологии – получения моноклональных антител (https://myslide.ru/documents_3/663de3868b84550afe089403cfc7e8d2/img19.jpg)

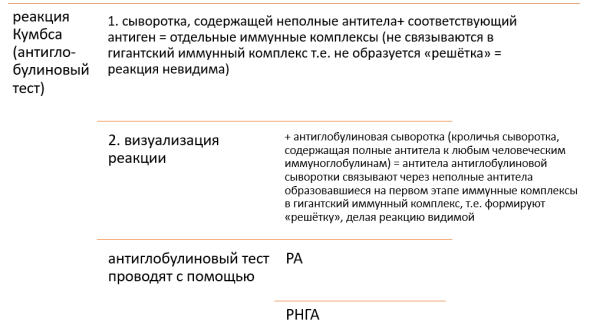
Неполные антитела

Одновалентные антитела, не образующие видимого глазом гигантского иммунного комплекса (т.е. выпавшей в осадок «решётки») в ходе реакций агглютинации или преципитации.

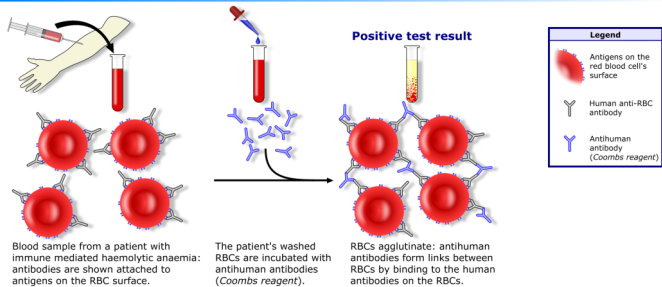


Выявление неполных антител

Неполные антитела выявляются реакцией Кумбса (антиглобулиновым тестом): на первом этапе к сыворотке, содержащей неполные антитела, добавляется соответствующий антиген – образуются отдельные иммунные комплексы, но реакция остаётся невидимой, т.к. последние не связываются в гигантский иммунный комплекс (т.е. не образуется «решётка»); на втором этапе для визуализации реакции добавляется антиглобулиновая сыворотка (кроличья сыворотка, содержащая полные антитела к любым человеческим иммуноглобулинам, в том числе и к неполным антителам) – антитела антиглобулиновой сыворотки связывают через неполные антитела образовавшиеся на первом этапе иммунные комплексы в гигантский иммунный комплекс, т.е. формируют «решётку», делая реакцию видимой; антиглобулиновый тест проводят с помощью РА или РНГА.



Direct Coombs test / Direct antiglobulin test



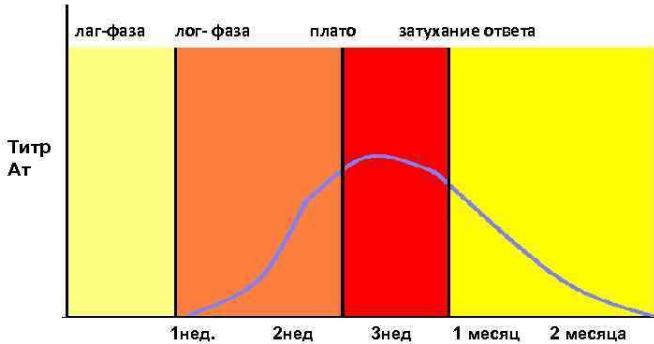
Прямая реакция Кумбса (антиглобулиновый тест) для выявления у больного гемолитической анемией антиэритроцитарных антител: к отмытым эритроцитам из образца крови больного добавляют реагент Кумбса (антитела против иммуноглобулинов человека), которые, связываясь с антиэритроцитарными иммуноглобулинами на поверхности эритроцитов, связывают (агглютинируют) эритроциты (<https://geekymedics.com/wp-content/uploads/2021/07/Figure-5-Coombs-test-direct-antiglobulin-e1625221139906.png>)

Абзимы

Этим термином обозначают антитела, которые не только связывают антиген, но и могут катализировать некоторые биохимические реакции.



Динамика антителообразования при первичном иммунном ответе



Динамика антите-лообразования

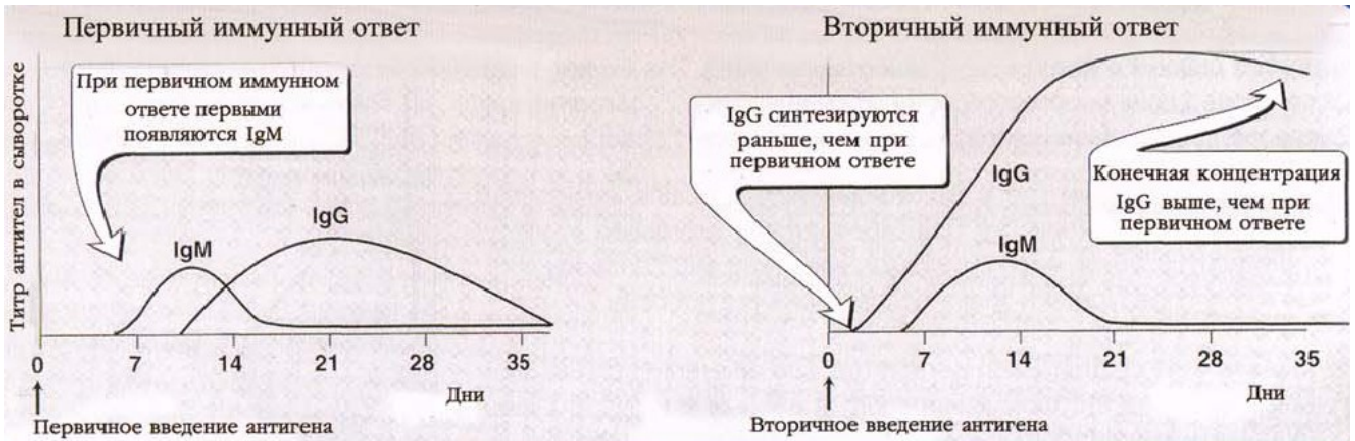
Образование антител в процессе гуморального иммунного ответа проходит в своём развитии четыре фазы: латентную или индуктивную (при первичном иммунном ответе – около 5 суток, при вторичном – примерно сутки), логарифмическую (примерно 10 дней, около 5 суток), стационарную (примерно 20 дней, месяцы) и фазу снижения (до полугода, годы).

- латентная (индуктивная)
 - при первичном иммунном ответе – около 5 суток
 - при вторичном – примерно сутки
- логарифмическая
 - примерно 10 дней
 - около 5 суток
- стационарная
 - примерно 20 дней
 - месяцы
- фаза снижения
 - до полугода
 - годы

(https://present5.com/presentation/13596267_181616369/image-41.jpg)

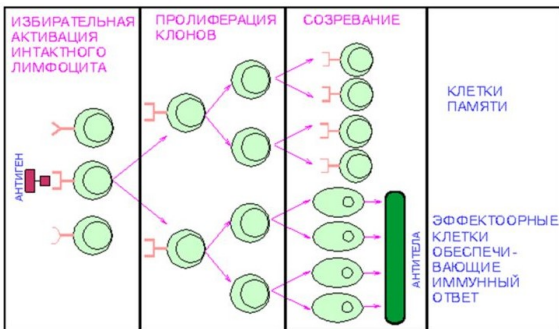
Характеристика фаз антите-лообразования

В латентную фазу происходит презентация антигена, актива-



(https://studfile.net/html/4948/312/html_xtjJAhtgT1.hP8D/img-_eflrO.png)

ция, пролиферация и дифференциация соответствующих клонов иммунокомпетентных клеток, синтез сначала IgM с последующим переключением на синтез IgG (при вторичном иммунном ответе – сразу синтезируется IgG), в логарифмической фазе происходит нарастание титра синтезируемых антител (при вторичном иммунном ответе – более интенсивное и до более высоких титров), стационарная фаза характеризуется максимальным и постоянным уровнем специфических антител, а в фазу снижения происходит постепенное снижение титра специфических антител.

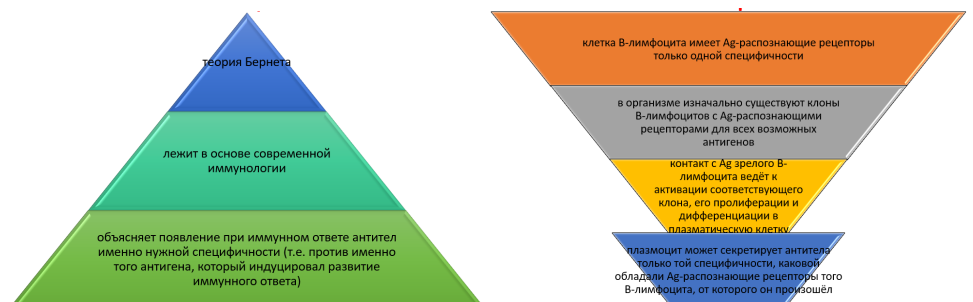


Клонально-селективная теория сэра Фрэнка Макфарлейна Бернета

(https://ukrepit-immunitet.ru/wp-content/uploads/2020/07/klon_selec_1.jpg)

Лежащая в основе современной иммунологии клонально-селекционная теория антите-лообразования (теория Бернета) следующим образом объясняет появление при иммунном ответе антител именно нужной специфичности (т.е. против именно того антигена, который индуциро-

Клонально-селекционная теория антите-лообразования



вал развитие иммунного ответа): клетка В-лимфоцита имеет Ag-распознающие рецепторы только одной специфичности и в организме изначально существуют клоны В-лимфоцитов с Ag-распознающими рецепторами для всех возможных антигенов – контакт с Ag зрелого В-лимфоцита ведёт к активации соответствующего клона, его пролиферации и дифференциации в плазматическую клетку, которая может секретировать антитела только той специфичности, каковой обладали Ag-распознающие рецепторы того В-лимфоцита, от которого она произошла.

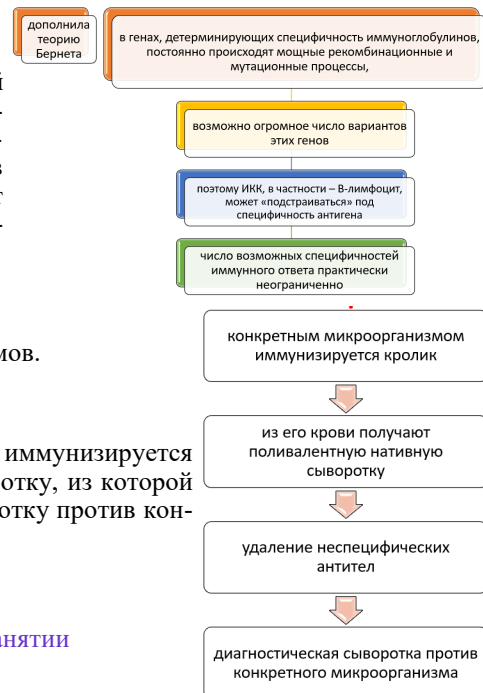
Объяснение клонально-селекционной теорией антителообразования феномена естественной иммунологической толерантности

Имунокомпетентные клетки (не только В-лимфоциты, но и Т-лимфоциты, которые тоже подчиняются рассмотренной выше закономерности), контактируя с соответствующим аутоантигеном на стадии эмбрионального развития (т.е. незрелыми), элиминируются (погибают или блокируются): в результате у родившегося организма нет соответствующего клона ИКК и иммунный ответ в отношении аутоантигена невозможен.



Молекулярно-генетическая теория С.Тонегавы

Теория Бернета была позднее дополнена молекулярно-генетической теорией Тонегавы, согласно которой в генах, детерминирующих специфичность иммуноглобулинов, постоянно происходят мощные рекомбинационные и мутационные процессы, в результате которых возможно огромное число вариантов этих генов; поэтому ИКК, в частности – В-лимфоцит, может «подстраиваться» под специфичность антигена и число возможных специфичностей иммунного ответа практически неограниченно.



Назначение диагностических сывороток

Диагностические сыворотки используются для идентификации микроорганизмов.

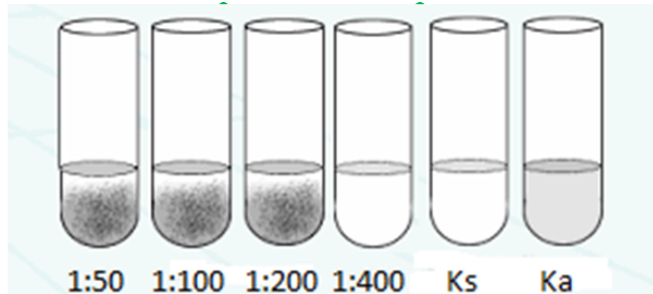
Принцип получения диагностических сывороток

Для получения диагностической сыворотки конкретным микроорганизмом иммунизируется кролик, в результате из его крови получают поливалентную нативную сыворотку, из которой путём удаления неспецифических антител, получают диагностическую сыворотку против конкретного микроорганизма.

Алгоритм выполнения практических навыков, приобретаемых на занятии

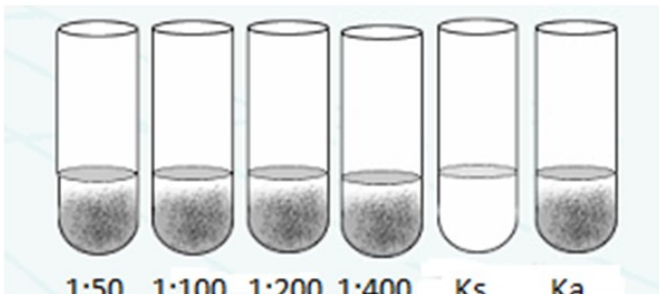
1. Проведение и учёт объёмной реакции агглютинации для определения титра антител:

1. приготовление двукратных разведений испытуемой сыворотки (титрование), не обязательно беря начальным 1:2, например – 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1: 1600 и т.д.;
2. добавление во все разведения 2 капель диагностикума;
3. термостатирование;
4. учёт – при наличии агглютинатов в разведениях сыворотки реакция считается положительной, а наибольшее разведение с наличием агглютината равно титру сыворотки (т.е. концентрации в ней антител против антигена диагностикума).

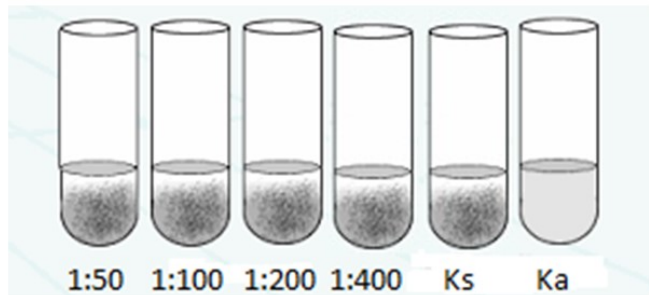


Объёмная реакция агглютинации поставлена правильно (отсутствие агглютинатов в контрольных пробирках) и положительная в титре 1:200 (т.е. титр антител – 1:200)

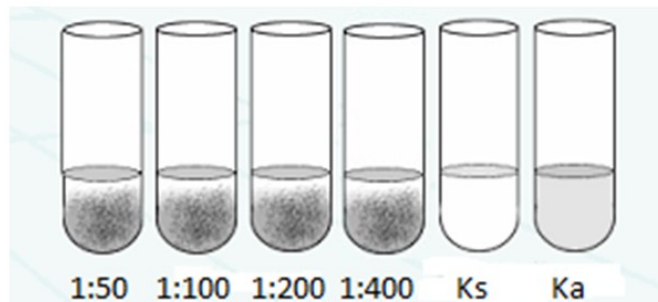
Здесь и ниже: Ks – контроль испытуемой сыворотки, Ka – контроль антигена (диагностикума)



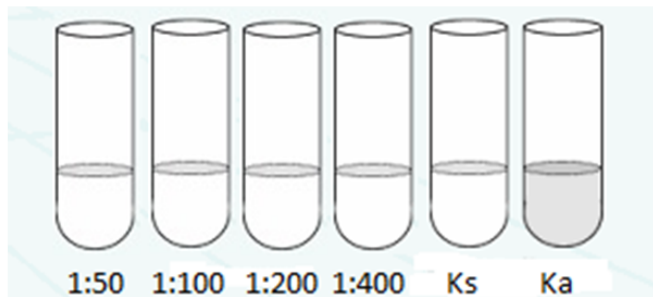
Учитывать реакцию нельзя – диагностикум формирует спонтанные агглютинаты; следует повторно поставить реакцию, сменив диагностикум



Учитывать реакцию нельзя – испытуемая сыворотка формирует спонтанные агглютинаты; следует повторно поставить реакцию, взяв новую сыворотку

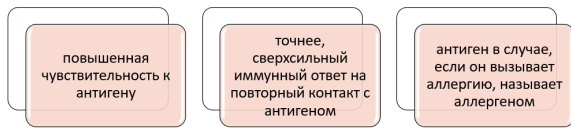


Титр антител в данном случае выше, чем 1:400 – следует повторить реакцию с большими разведениями сыворотки



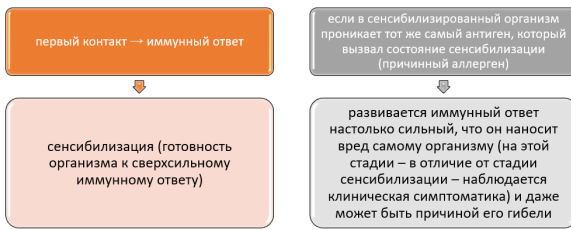
Титр антител в данном случае ниже, чем 1:50 – следует, если такая необходимость существует, повторить реакцию с меньшими разведениями сыворотки

Аллергия: общее понятие



Аллергия (гиперчувствительность) – это повышенная чувствительность к антигену; точнее, сверхсильный иммунный ответ на повторный контакт с антигеном (который в случае, если он вызывает аллергию, называется аллергеном).

Аллергия: алгоритм развития



Первый контакт с аллергеном вызывает такую же цепь событий, которая развивается и при нормальном иммунном ответе, однако, формируется состояние, которое обозначается термином сенсibilизация (его можно понимать как готовность организма к сверхсильному иммунному ответу) – если в сенсibilизированный организм проникает тот же самый антиген, который вызвал состояние сенсibilизации (причинный аллерген), то развивается иммунный ответ настолько сильный, что он наносит вред самому организму (на этой стадии – в отличие от стадии сенсibilизации – наблюдается клиническая сим-

томатика) и даже может быть причиной его гибели.

Отличительные особенности аллергенов

- проявляют своё действие в крайне малых дозах
- белковые – обладают относительно невысокой молекулярной массой
- для небелковых аллергенов характерна способность вступать в химические соединения с собственными белками организма

Аллергены проявляют своё действия в крайне малых дозах, белковые – обладают относительно невысокой молекулярной массой, а для небелковых аллергенов характерна способность вступать в химические соединения с собственными белками организма.

Классификация аллергенов

Аллергены классифицируются на экзоаллергены



(инфекционные и неинфекционные) и эндоаллергены (изменённые аутоантигены и забарьерные ткани).

Группа 1. Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ) – через 20-30 минут после повторного контакта с аллергеном, антитела

- 1 тип – медиаторного типа или анафилаксия
- 2 тип – цитотоксического типа
- 3 тип – иммунокомплексного типа

Общая классификация аллергических реакций и их эффекторное звено

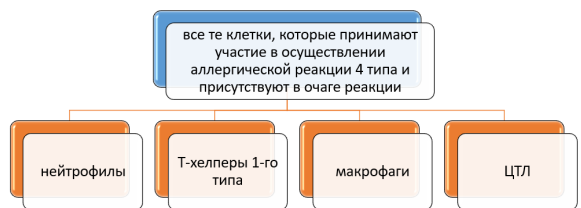
Аллергические реакции классифицируются на две группы и четыре типа: реакции 1-3 типов (медиаторного типа или анафилаксия, цитотоксического типа, иммунокомплексного типа) относятся к группе гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), поскольку развиваются через 20-30 минут после повторного контакта с аллергеном (эффекторное звено этих реакций представлено антителами), аллергическая реакция 4 типа (клеточного типа) относится к группе гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), поскольку развивается через 20-30 часов после повторного контакта с аллергеном (эффекторное звено представлено Т-эффекторами ГЗТ).

Группа 2. Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) – через 20-30 часов после повторного контакта с аллергеном – Т-эффекторы ГЗТ

- 4 тип – реакция клеточного типа

Современное понятие термина «Т-эффектор ГЗТ»

В настоящее время под термином «Т-эффектор ГЗТ» понимают все те клетки, которые принимают участие в осуществлении аллергической реакции 4 типа и присутствуют в очаге реакции: нейтрофилы, Т-хелперы первого типа, макрофаги, цитотоксические лимфоциты.



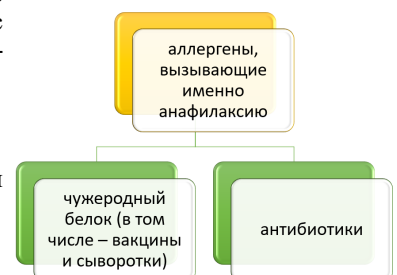
Фазы протекания аллергических реакций и их характеристика



Аллергическая реакция любого типа в своём развитии проходит через три фазы: иммунологическую (контакт с аллергеном, активация иммунокомпетентных клеток, синтез антител), патохимическую (синтез активированными на предыдущем этапе клетками биологически активных веществ – медиаторов) и патофизиологическую (клиническое проявление аллергической реакции, обусловленное действием синтезированных на предыдущем этапе биологически активных веществ с развитием соответствующей симптоматики: сыпь, зуд, отёк и т.д.).

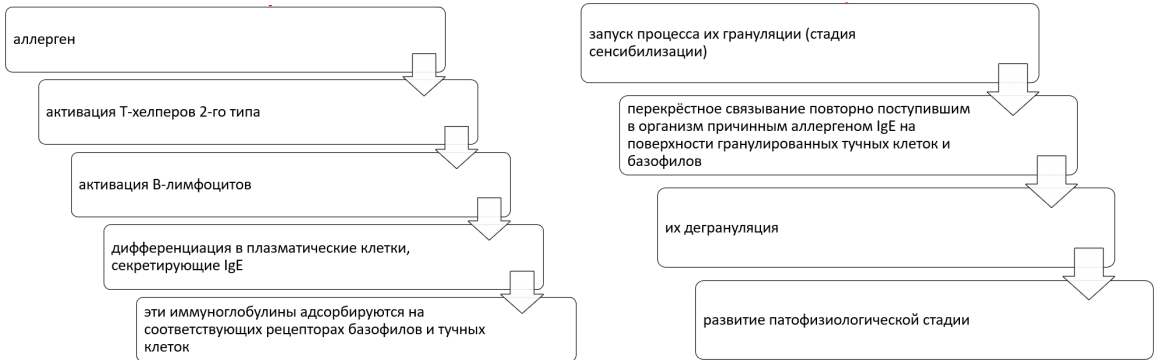
Анафилаксия: причинные аллергены

Аллергенами, вызывающие именно анафилаксию, являются чужеродный белок (в том числе вакцины и сыворотки) и антибиотики.



Патогенетическая схема развития анафилаксии

После активации аллергеном Т-хелперов второго типа, последние активируют В-лимфоциты, которые дифференцируются в плазматические клетки, секретирующие IgE, эти иммуноглобулины адсорбируются на соответствующих рецепторах базофилов и тучных клеток, чем запускают процесс их грануляции (стадия сенсибилизации) – перекрёстное связывание повторно поступившим в организм причинным аллергеном IgE на поверхности гранулированных тучных клеток и базофилов ведёт к их дегрануляции и развитию патофизиологической стадии.



Грануляция и дегрануляция базофилов и тучных клеток

При грануляции базофилов и тучных клеток происходит синтез ими биологически активных веществ – медиаторов, которые скапливаются в цитоплазматических гранулах, при дегрануляции эти вещества секретируются клетками наружу; в норме этот механизм способствует формированию защитной воспалительной реакции, но при высоком уровне синтеза медиаторов развивается патологическая реакция, которая может представлять опасность для жизни.



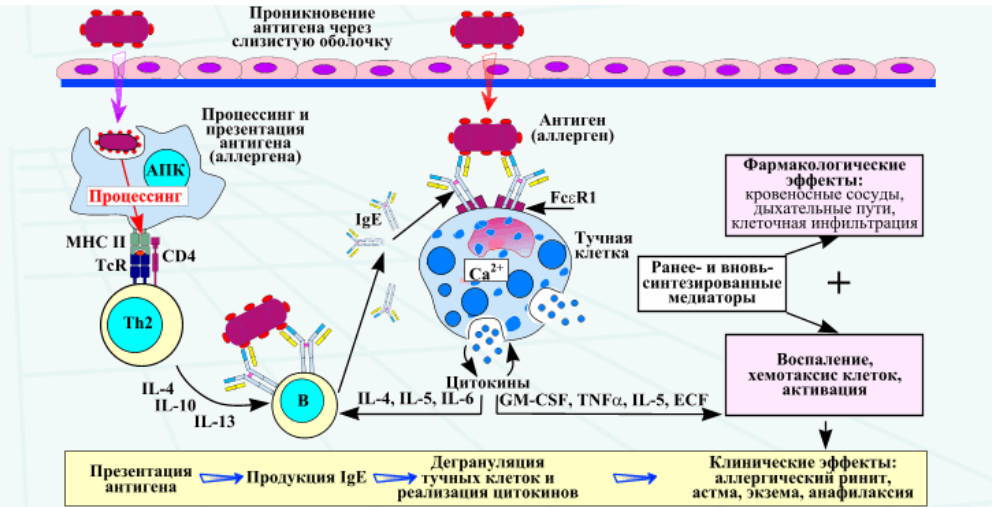
Медиаторы анафилактической реакции



Медиаторы базофилов и тучных клеток классифицируются на два порядка: медиаторы первого порядка всегда содержатся в гранулах этих клеток (гистамин, серотонин, гепарин), медиаторы второго порядка (лейкотриены, простагландины) синтезируются в активированных IgE базофилах и тучных клетках, они обладают примерно в 1000 раз большей активностью, чем гистамин.

Клинические проявления анафилаксии

Анафилаксия может быть местная, т.е. связанная с локальной реакцией в коже или слизистой оболочке (например, крапивница, реакция на укус пчелы), а также системная – анафилактический шок.



Шок-органы анафилактической реакции



(https://present5.com/presentation/1/21527386_351943709.pdf-img/21527386_351943709.pdf-36.jpg)

Шок органами называются те органы, которые поражаются в ходе анафилактической реакции чаще других, у человека – это сосуды и бронхи.

Атопия

Под атопией понимают наследственную предрасположенность к гиперпродукции IgE в ответ на контакт с антигеном, в

норме вообще практически не индуцирующим синтез антител.

Причинные аллергены аллергической реакции II типа

Причинными аллергенами этого типа реакции являются антигены (часто – гаптены), вторично связанные с клеточной поверхностью (как правило, лекарственные вещества).

Патогенетическая схема развития аллергической реакции II типа

К поверхностным антигенам собственной клетки вырабатываются IgG и IgM, что приводит к активации комплемента и комплемент-зависимому цитолизу и фагоцитозу, а также к развитию АЗКЦТ (лизису такой клетки в результате атаки на неё NK-клетки).



Характеристика аллергической реакции II типа

Этот тип аллергической реакции наиболее часто развивается при лекарственной аллергии с поражением клеток крови и эндотелия кровеносных сосудов.



Причинный механизм развития аллергической реакции III типа

Аллергическая реакция этого типа развивается при значительном избытке антигена, в результате чего образуются иммунные комплексы малых и средних размеров, которые обладают токсическим действием – вызывают воспалительную реакцию и разрушение тканей организма.



Основные патогенетические механизмы аллергической реакции III типа и их характеристика

Воспалительная реакция развивается вследствие того, что иммунные



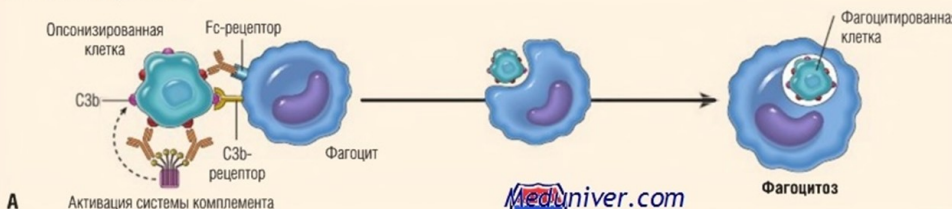
ПАТОГЕНЕЗ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ II ТИПА
(син.: цитотоксических, цитолитических)



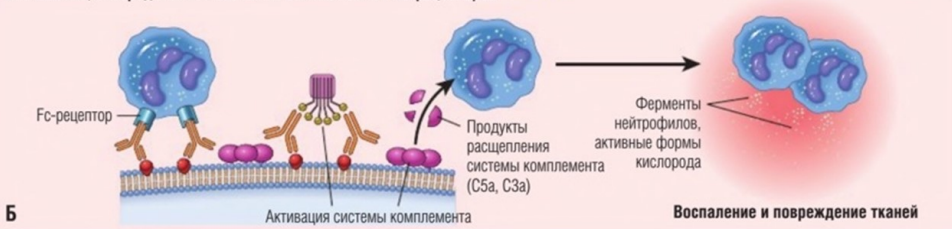
(<https://cf.ppt-online.org/files1/slide/w/WXLB8zHERqOPidMkg1DQ4F7mUwjrAs50plCZufao2/slide-35.jpg>)

Механизмы гиперчувствительности II типа

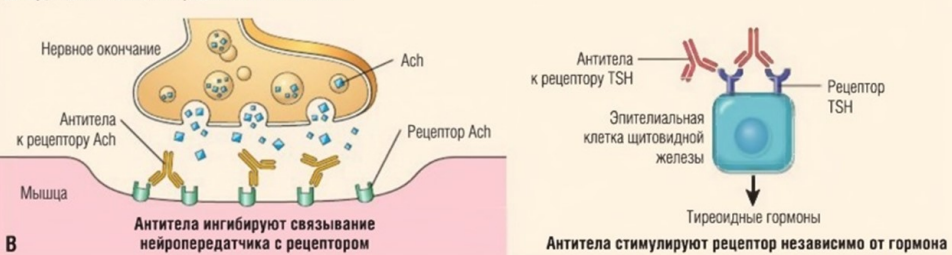
Опсонизация и фагоцитоз



Воспаление, опосредованное системой комплемента и Fc-рецептором



Дисфункция клеток, опосредованная антителами

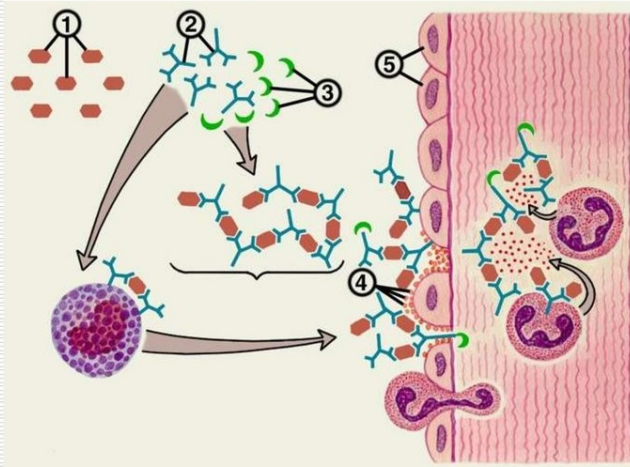


(https://studfile.net/html/65070/203/html_IFuUizbAau.g3El/htmlconvd-z4JSvL_html_bf229239bf8aeb9e.jpg)

комплексы, откладываясь на клетках тканей организма, активируют комплемент, в результате чего активные фракции последнего вызывают повышение проницаемо-

сти сосудов и привлекают в данную зону полиморфноядерные лейкоциты; разрушение тканей организма вызывается также протеолитическими ферментами, выделившимися из разрушенных фагоцитов (поскольку токсические иммунные ком-

Общий механизм развития аллергической реакции иммунокомплексного типа



Иммунный комплекс при соединении антигена (1) с антителом (2) откладывается в стенке сосуда. На нем фиксируется комплемент (3). Комплексы фагоцитируются нейтрофилами, которые выделяют лизосомальные ферменты (указано стрелками). Повышению проницаемости способствует освобождение базофилами гистамина и тромбоцитарного фактора, который вызывает агрегацию тромбоцитов (4) на эндотелиальных клетках (5) и стимулирует выделение из тромбоцитов гистамина и серотонина.

(<https://cf.ppt-online.org/files/slide/n/NnxagcP8Lw5UfvohKXISRiBT1pCbt7Dz90mMhr/slide-43.jpg>)



плексы, будучи фагоцитированными, вызывают повреждение и разрушение фагоцитированных их клеток).

Клинические проявления аллергической реакции III типа

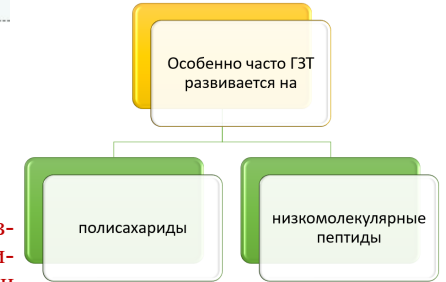
Клинические проявления аллергической реакции III типа зависят от места образования иммунных комплексов: при образовании их в кровотоке (аллерген поступает в кровь) развиваются такие состояния, как геморрагический васкулит, сывороточная болезнь, а при образовании иммунных комплексов в тканях (при поступлении в них аллергена) развивается феномен Артюса.

Отложения иммунных комплексов в стенках сосудов
(<https://www.ok-t.ru/studopediaru/baza9/877307838664.files/image027.jpg>)

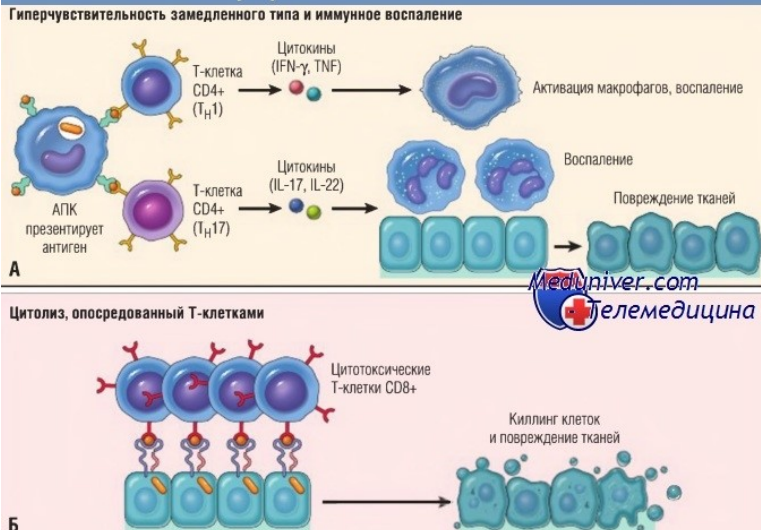


Причинные аллергены аллергической реакции IV типа

Особенно часто ГЗТ развивается на полисахариды и низкомолекулярные пептиды.



Реакция гиперчувствительности IV типа

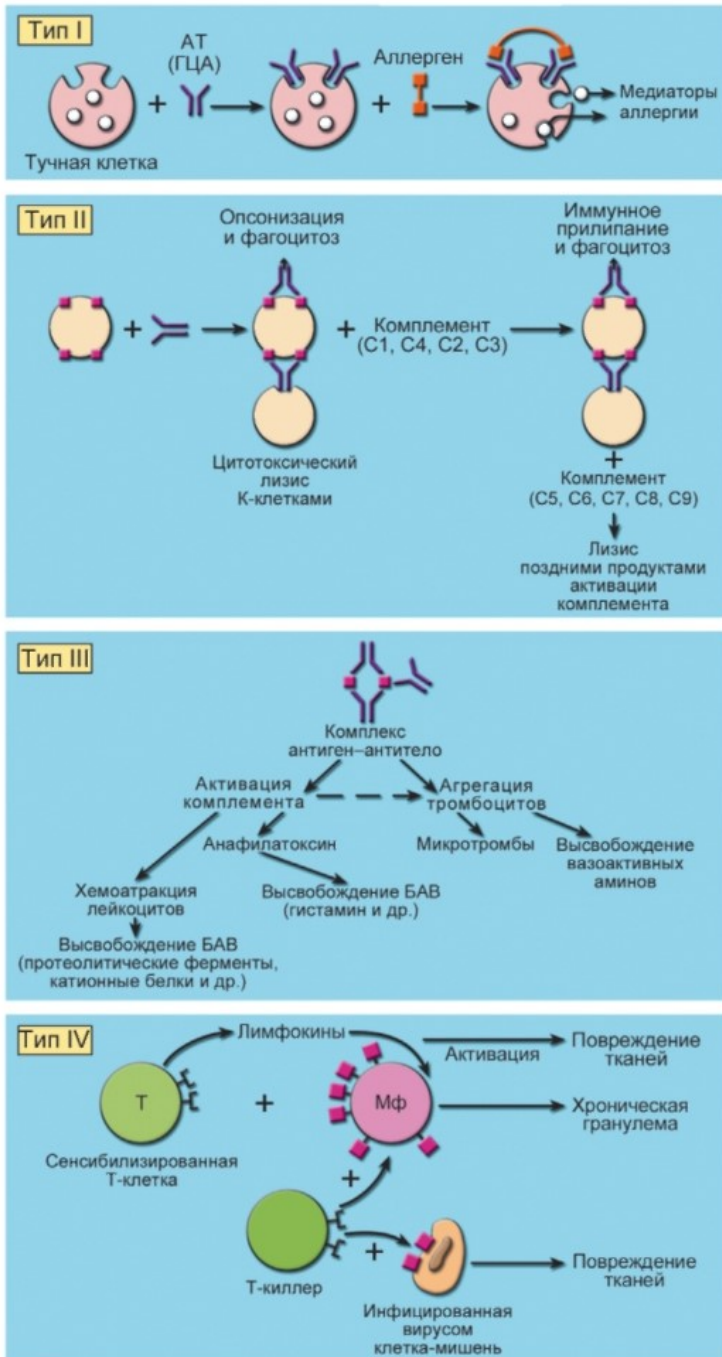


Патогенетическая схема развития аллергической реакции IV типа

Малые дозы аллергена (особенно – при внутрикожном введении) вызывают активацию Т-хелперов первого типа, секрецию большого количества ИЛ-2 и активацию Т-эффекторов ГЗТ и макрофагов.

(<https://cf.ppt-online.org/files1/slide/w/WBQJ8d1SGmhCvOwKqRxolVi2b9Au7g4F3H5YurLiae/slide-1.jpg>)





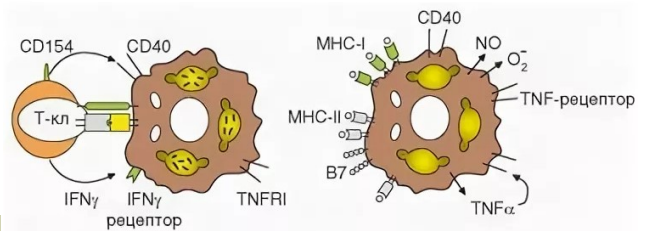
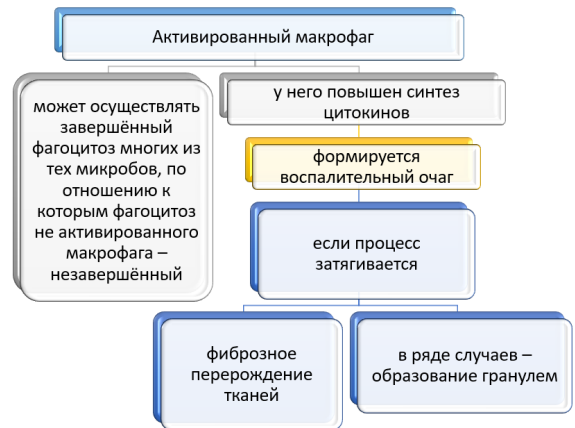
Иммунная активация макрофага

Происходит при получении макрофагов двух информационных сигналов: контакт с Т-хелпером первого типа (инфицированный макрофаг имеет больше шансов на такой контакт) и воздействие гамма-интерферона (который секретируется, в частности, тем же Т-хелпером первого типа).



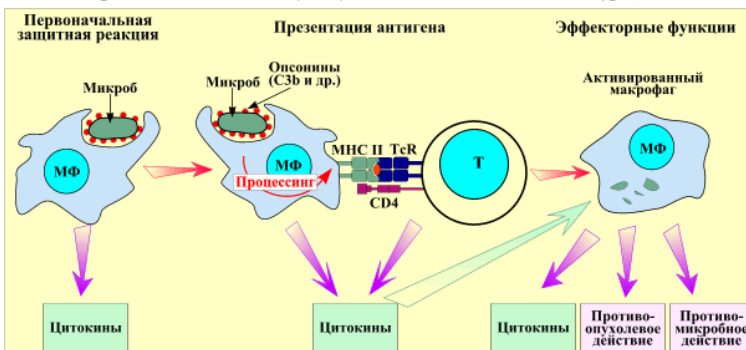
Активированный макрофаг

Активированный макрофаг может осуществлять завершённый фагоцитоз многих из тех микробов, по отношению к которым фагоцитоз не активированного макрофага – незавершённый, кроме того, у активированного макрофага повышен синтез цитокинов, благодаря которым формируется воспалительный очаг, а если процесс затягивается, то и фиброзное перерождения тканей, а в ряде случаев – образование гранулем.



(https://www.med24info.com/data/books/58f14540e610920170415_0055.232.jpg)

Общая схема механизма развития аллергических реакций (<https://vsseglisty.ru/wp-content/uploads/4/8/4/484e18f3b7f115770c620256c9b0a879.jpg>)



Функции макрофага в системе защиты макроорганизма от чужеродного антигена (<https://cf.ppt-online.org/files1/slide/k/KHOgCG3NxDaQhz5vuLqW2iX4s1ynERco8YVmt0lje/slide-32.jpg>)

Гигиеническая гипотеза

Гигиеническая гипотеза была впервые сформулирована Страчаном (David Strachan) в 1989 году как предположение, что снижение уровня инфекций в раннем



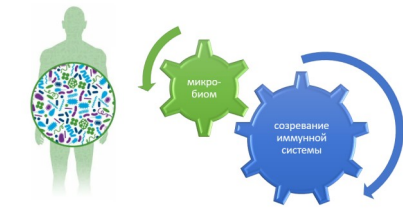
Страчан, 1989

детском возрасте служит причиной повышения уровня в человеческой популяции аллергических состояний. Само название гипотезы – «гигиеническая» – изначально было неудачным, поскольку ассоциативно уводила мысль, особенно людей недостаточно знакомых с сущностью предмета, в ложную сторону: что соблюдение гигиенических процедур отрицательно сказывается на аллергическом статусе человека.

Однако, суть гипотезы заключается вовсе не в гигиене, что и подчёркивалось дальнейшими уточнениями, наиболее удачное из которых – «гипотеза старых друзей», сформулированная Руком (Graham Rook) в 2003 году. Смысл этой гипотезы заключается в том, что положительную роль в развитии иммунной системы играют те микробы, которые эволюционировали вместе с человеком во времена охотников-собираателей, свыше 10 000 лет назад. Эти микробы в условиях немногочисленных изолированных друг от друга сообществ людей формировали в них латентную инфекцию или носительство.

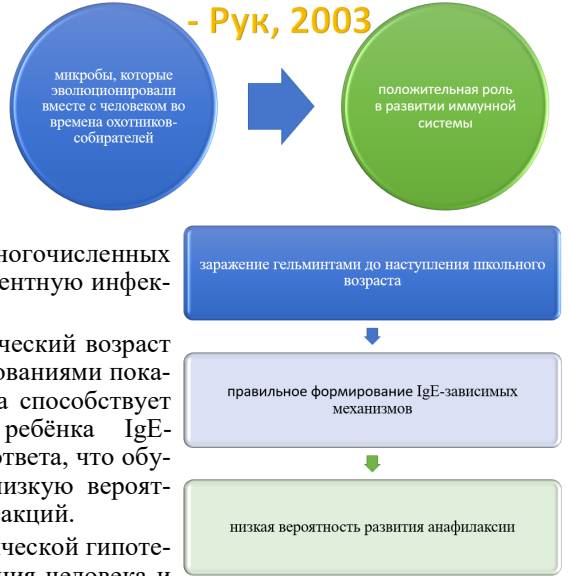
В частности, в группу таких патогенов входят гельминты, филогенетический возраст которых совпадает с вышеуказанным временем. Современными исследованиями показано, что заражение гельминтами до наступления школьного возраста способствует правильному формированию у ребёнка IgE-зависимых механизмов иммунного ответа, что обуславливает у него в дальнейшем низкую вероятность развития анафилактических реакций.

Современная формулировка гигиенической гипотезы заключается в том, что коэволюция человека и его микробиома привела к тому, что последний превратился в необходимый фактор правильного созревания иммунной системы организма.



«гипотеза старых друзей»

- Рук, 2003

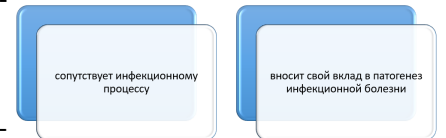


Инфекционная аллергия: общее понятие

Аллергическое состояние, развивающиеся при контакте с инфекционным аллергеном – микроорганизмом.

Инфекционная аллергия: роль в инфекционном процессе

Сопутствует инфекционному процессу и вносит свой вклад в патогенез инфекционной болезни.

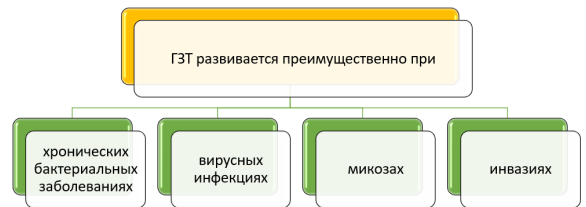


Инфекционная аллергия: преимущественный тип аллергии

Преимущественный тип инфекционной аллергии – ГЗТ.

Микробные заболевания, сопровождающиеся развитием ГЗТ

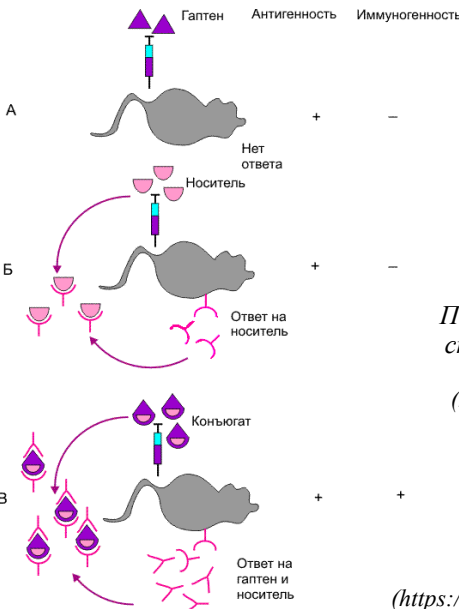
ГЗТ развивается преимущественно при хронических бактериальных заболеваниях, вирусных инфекциях, микозах, инвазиях.



Использование инфекционной аллергии в диагностике

Явление инфекционной аллергии используется в диагностике инфекционных болезней (постановка кожно-аллергических проб).

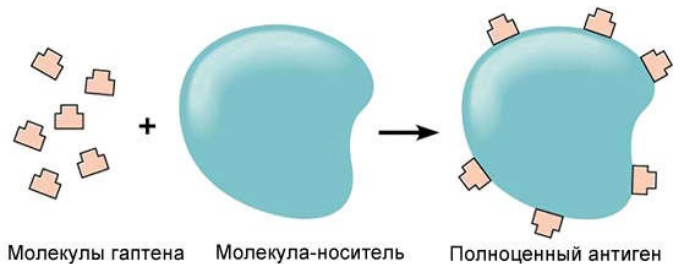
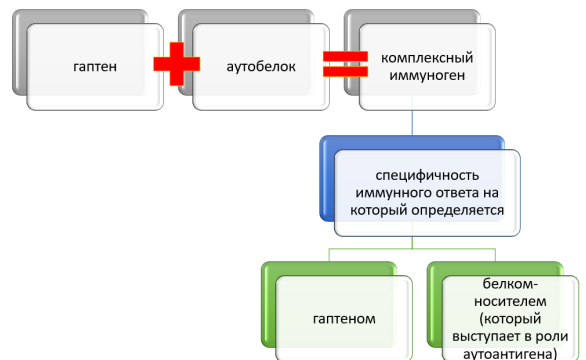
Закономерности иммунного ответа на гаптены



Гаптен, соединяясь с аутобелком, формирует комплексный (конъюгированный) иммуноген, специфичность иммунного ответа на который определяется не только гаптеном, но и белком-носителем (который выступает в роли аутоантигена).

Понятие об антигенности и иммуногенности гаптена

(http://humbio.ru/humbio/immunology/imm-gal/images/drgal_01-1.gif)



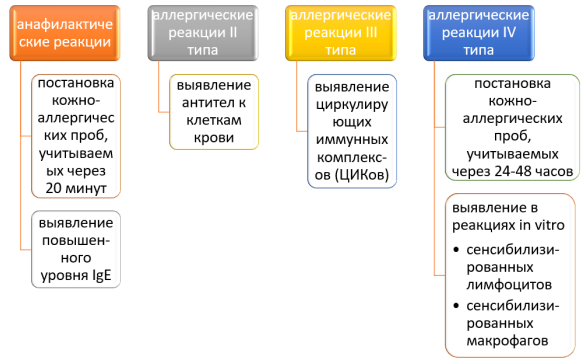
Формирование комплексного (конъюгированного) иммуногена
 (https://probolezny.ru/media/bolezny/lekarstvennaya-allergiya/obrazovanie-polnogo-antigena_s.jpg)

Особенности иммунного ответа на лекарства-гаптены

При лекарственной аллергии всегда присутствует аутоиммунный компонент.

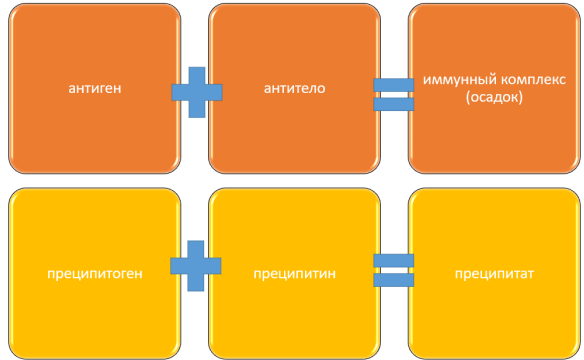
Методы диагностики аллергических реакций

Анафилактические реакции диагностируются путём постановки кожно-аллергических проб, учитываемых через 20 минут, а также выявлением повышенного уровня IgE; аллергические реакции II типа диагностируются путём выявления антител к клеткам крови; аллергические реакции III типа диагностируются путём выявления циркулирующих иммунных комплексов; аллергические реакции IV типа диагностируются путём постановки кожно-аллергических проб, учитываемых через 24-48 часов, а также путём выявления сенсibilизированных лимфоцитов и макрофагов в реакциях *in vitro*.



Реакция преципитации: сущность

Осаждение (преципитация) антигена, находящегося в коллоидном состоянии, под воздействием специфических антител в растворе электролита.



Реакция преципитации: основные термины

Антиген, участвующий в РП называется преципитогеном, антитело – преципитином, иммунный комплекс (осадок) – преципитатом.

Реакция преципитации: применение



Реакция преципитации широко применяется в диагностике инфекционных заболеваний, а также в судебно-медицинской экспертизе (для определения видовой и индивидуальной принадлежности белков), санитарной практике (выявления фальсификации рыбных и мясных изделий).

Реакция преципитации: способы постановки

Реакция преципитации ставится в пробирке (например, реакция по Асколи) или в геле (иммунодиффузия).

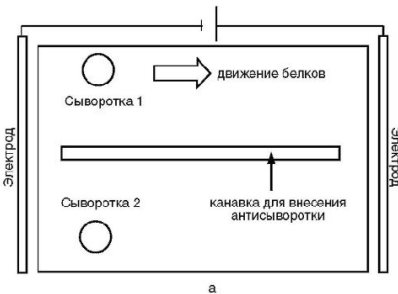


РП по Асколи: принцип постановки, вычисление титра



В этой реакции последовательные разведения антигена наслаивают на стандартные разведения диагностической сыворотки; под титром этой реакции понимают максимальное разведение антигена, при котором наблюдается кольцо преципитации.

РП в геле (основное преимущество по сравнению с пробирочной РП, простая линейная диффузия)



Гель

(высокоочищенный агар) выполняет функцию локализации преципитата, т.к. он, в отличие от антител и антигенов, не может диффундировать в геле; при постановки простой линейной диффузии гель содержит сыворотки к изучаемым антигенам, в канавку, сделанную в геле, вносят смесь антигенов, которые диффундируют в геле и в месте эквивалентной концентрации со специфическими антителами образуют линии преципитата: количество таких полос соответствует числу антигенов, находящихся в исходной смеси, а длина «пробега» от «линии старта» прямо пропорциональна концентрации данного антигена.

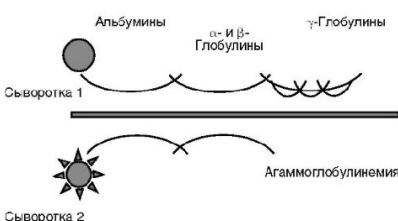
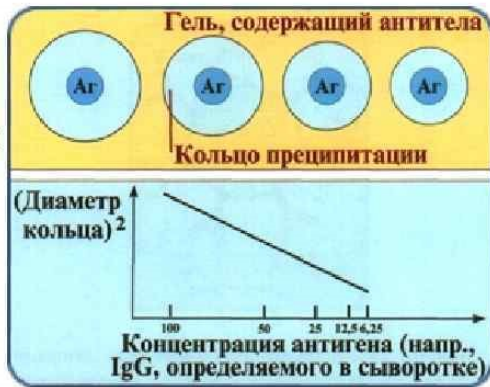


Схема применения метода простой иммунной диффузии в сочетании с электрофоретическим разделением белков для определения содержания в сыворотке крови альфа-, бета- и гамма-глобулинов. Сыворотка 2 – пример агаммаглобулинемии, т.е. отсутствие гамма-глобулиновой фракции сывороточных белков (http://vmede.org/sait/content/Immunologija_prak_koval4k_2010/5_files/mb4_010.jpeg)

Усовершенствованные методы РП: реакция по Манчини

Реакция радиальной иммунодиффузии (по Манчини)

В геле, содержащем антитела, вырезают лунки и заполняют их раствором антигена. Молекулы антигена **радиально** диффундируют из лунки и, встретившись с антителами, образуют кольцо преципитации.

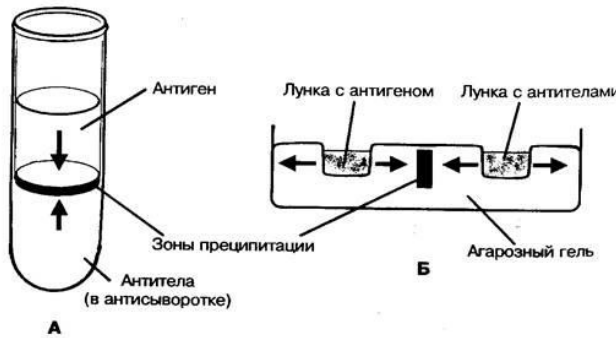
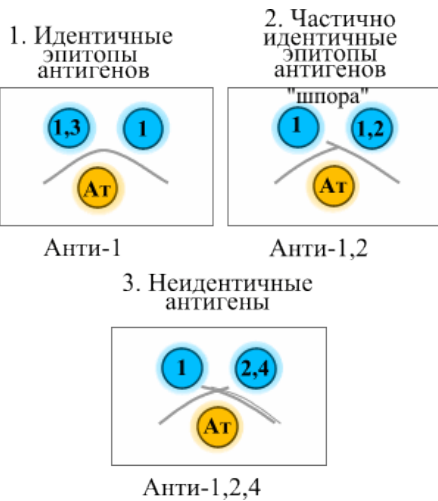


(https://present5.com/presentation/113509494_139490065/image-20.jpg)

В реакции по Манчини гель содержит один компонент реакции (антиген или сыворотку), а в лунку вносится другой её компонент, который и диффундирует в геле – диаметр зоны преципитации прямо пропорционален количеству диффундируемого компонента.

Усовершенствованные методы РП: реакция по Оухтерлони

В реакции по Оухтерлони гель не содержит компонентов реакции, они вносятся в лунки и диффундируют друг навстречу другу (двойная, или встречная, иммунодиффузия).



гель не содержит компонентов реакции

они вносятся в лунки

диффундируют друг навстречу другу (двойная, или встречная, иммунодиффузия)

Принцип постановки реакции по Оухтерлони (Б) в соотношении с принципом постановки реакции по Асколи (А) (https://present5.com/docs/reakciya_ag_at_images/reakciya_ag_at_28.jpg)

Вид полос преципитации в зависимости от схожести антигенов в соседних лунках

(<https://cf.ppt-online.org/files1/slide/v/VczqYQxkw5BnbXtW4yj0L2oi7GlrM9a6eC3hs8UPN/slide-9.jpg>)

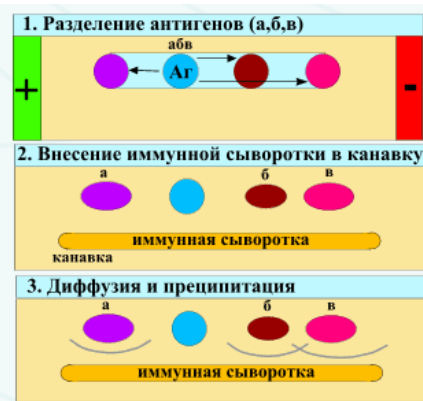


Схема проведения иммуноэлектрофореза, иллюстрирующая принцип постановки и учёта результатов этого метода (https://studfile.net/html/2706/244/html_DM9YfEZJdr.NRBn/htmlconvdt_sz_H45x1.jpg)

Усовершенствованные методы РП: иммуноэлектрофорез

При этой реакции проводят электрофоретическое разделение белков в забуференном агаровом геле, а в канавку – параллельно миграции белков – вносят преципитирующую сыворотку: дуги преципитации дают представление о составе исходной смеси антигенов по своему количеству, расположению и форме.

Усовершенствованные методы РП: иммуноблоттинг

При этом методе осуществляют электрофоретическое разделение антигенов в полиакриламидном геле, затем их переносят на микропористую нитроцеллюлозную мембрану, обрабатывают моноклональными антителами и выявляют преципитаты с помощью меченой антиглобулиновой сыворотки (например, в РИФ).

Реакция нейтрализации токсина антитоксином

Эту реакцию можно проводить или in vitro или in vivo; РН in

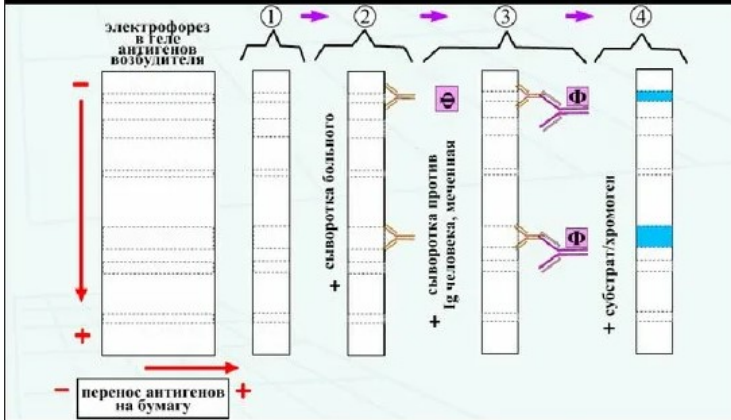
проводят электрофоретическое разделение белков в забуференном агаровом геле

в канавку – параллельно миграции белков – вносят преципитирующую сыворотку

дуги преципитации дают представление о составе исходной смеси антигенов по своему:



Иммуноблоттинг



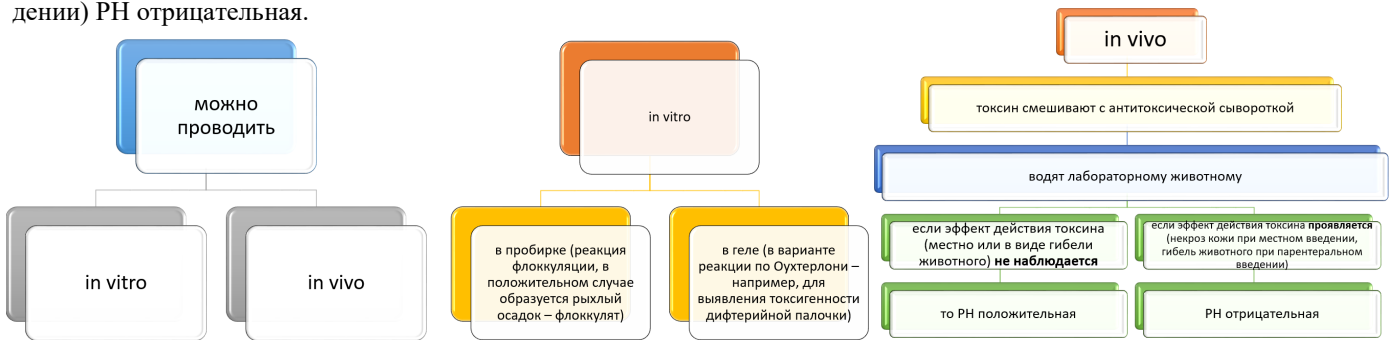
- ❑ Антигены возбудителя разделяют с помощью **электрофореза** в полиакриламидном геле, затем переносят их (блоттинг - от англ, blot, пятно) из геля на активированную бумагу (1) или нитроцеллюлозную мембрану
- ❑ и проявляют с помощью **ИФА**.
- ❑ Фирмы выпускают такие полоски с "блотами" антигенов. На эти полоски (стрипы) наносат сыворотку больного (2). Затем, после инкубации, отмывают от несвязавшихся антител больного и наносят сыворотку против иммуноглобулинов человека, меченную ферментом (3).
- ❑ Образовавшийся на полоске комплекс [антиген + антитело больного + антитело против Ig человека] выявляют добавлением хромогенного субстрата (4), изменяющего окраску под действием фермента.

Control	Toxoplasma gondii	Rubella virus	CMV	HSV-1	HSV-2
To R.C.H.					
To R.C.H.					
To R.C.H.					
To R.C.H.					
To R.C.H.					
To R.C.H.					
To R.C.H.					

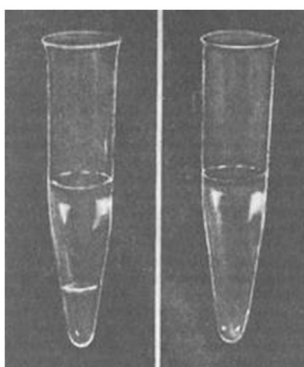
Пример: Лайн-блот для диагностики TORCH-инфекций (Токсоплазмоз, Краснуха, Цитомегаловирус, ВПГ 1 и ВПГ 2)

(https://fsd.multiurok.ru/html/2021/11/24/s_619e9566b2ae7/php4TfpVv_6.Immunoprofilaktika-immunoterapiya_html_c759893ce0209c21.jpg)

in vitro проводят или в пробирке (реакция флоккуляции, в положительном случае образуется рыхлый осадок – флоккулят) или в геле (в варианте реакции по Оухтерлони – например, для выявления токсигенности дифтерийной палочки); РН in vivo проводят следующим образом: токсин смешивают с антитоксической сывороткой и водят лабораторному животному – если эффект действия токсина (местно или в виде гибели животного) не наблюдается, то РН положительная, если эффект действия токсина проявляется (некроз кожи при местном введении, гибель животного при парентеральном введении) РН отрицательная.



Алгоритм выполнения практических навыков, приобретаемых на занятии



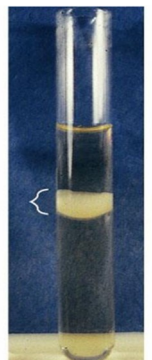
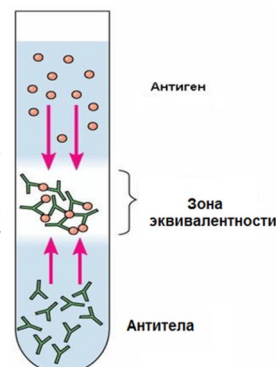
Реакция преципитации по Асколи (слева – положительная, справа – отрицательная)

учёт – в положительном случае на границе сыворотки и раствора антигена появляется мутная полоска/кольцо.

Принцип постановки реакции преципитации по Асколи

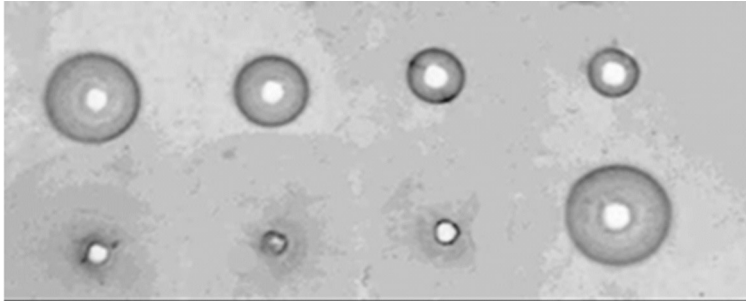
1. Проведение и учёт реакции преципитации по Асколи:

В пробирке на диагностическую сыворотку медленно и осторожно, по каплям, наслаивается идентифицируемый антиген;

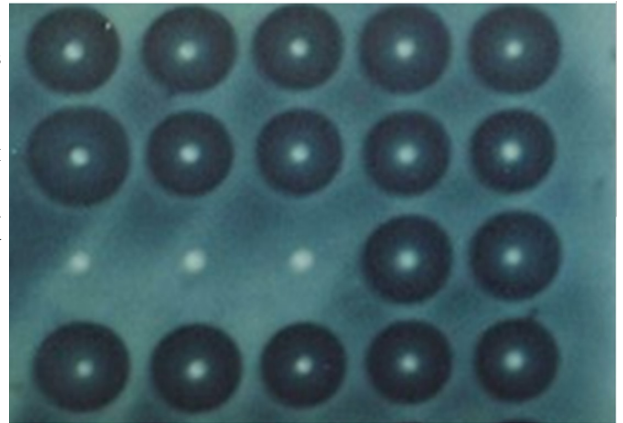


2. Учёт реакции преципитации по Манчини:

На специальное стекло тонким слоем наносится гель с одним из компонентов реакции;
 в слое геле делают микролунки;
 в лунки вносится исследуемый раствор с вероятным содержанием второго компонента реакции;
 учёт – в положительном случае вокруг лунки появляется зона преципитации, диаметр которой прямо пропорционален количеству внесённого в данную лунку компонента реакции.



Учёт реакции преципитации по Манчини (в верхнем ряду лунок концентрация внесённого в них компонента реакции увеличивается справа налево; в нижнем ряду лунки слева не содержат искомого компонента реакции, т.е. реакция преципитации в них отрицательная)

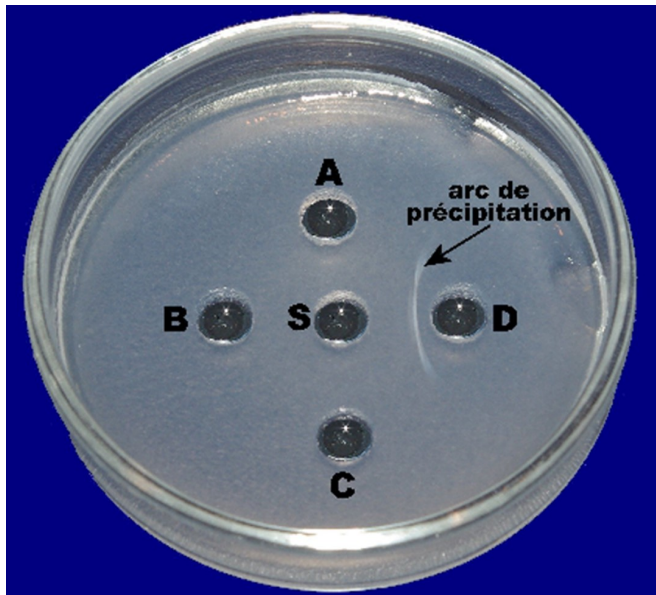


Учёт реакции преципитации по Манчини (лунки с отрицательной реакцией – левые три в третьем ряду сверху)

3. Учёт реакции преципитации по Оухтерлони:

на специальное стекло тонким слоем или в чашку Петри наносится гель, не содержащий ни один из компонентов реакции;
 в слое геле делают (микро)лунки;
 в одну лунку вносят один из компонентов реакции, во вторую (или, например, в лунки вокруг неё) – исследуемый раствор с вероятным содержанием второго компонента реакции;

учёт – в положительном случае между лункой с одним из компонентов реакции и той лункой, в которой содержится второй её компонент, наблюдается полоска (или дуга, «ус») преципитации.



Учёт реакции преципитации по Оухтерлони (один из компонентов реакции внесён в лунку "S", в лунке "D" содержится второй компонент реакции, в лунках "A", "B" и "C" второй компонент реакции отсутствует)

ЛО, ПФ. Занятие № 15

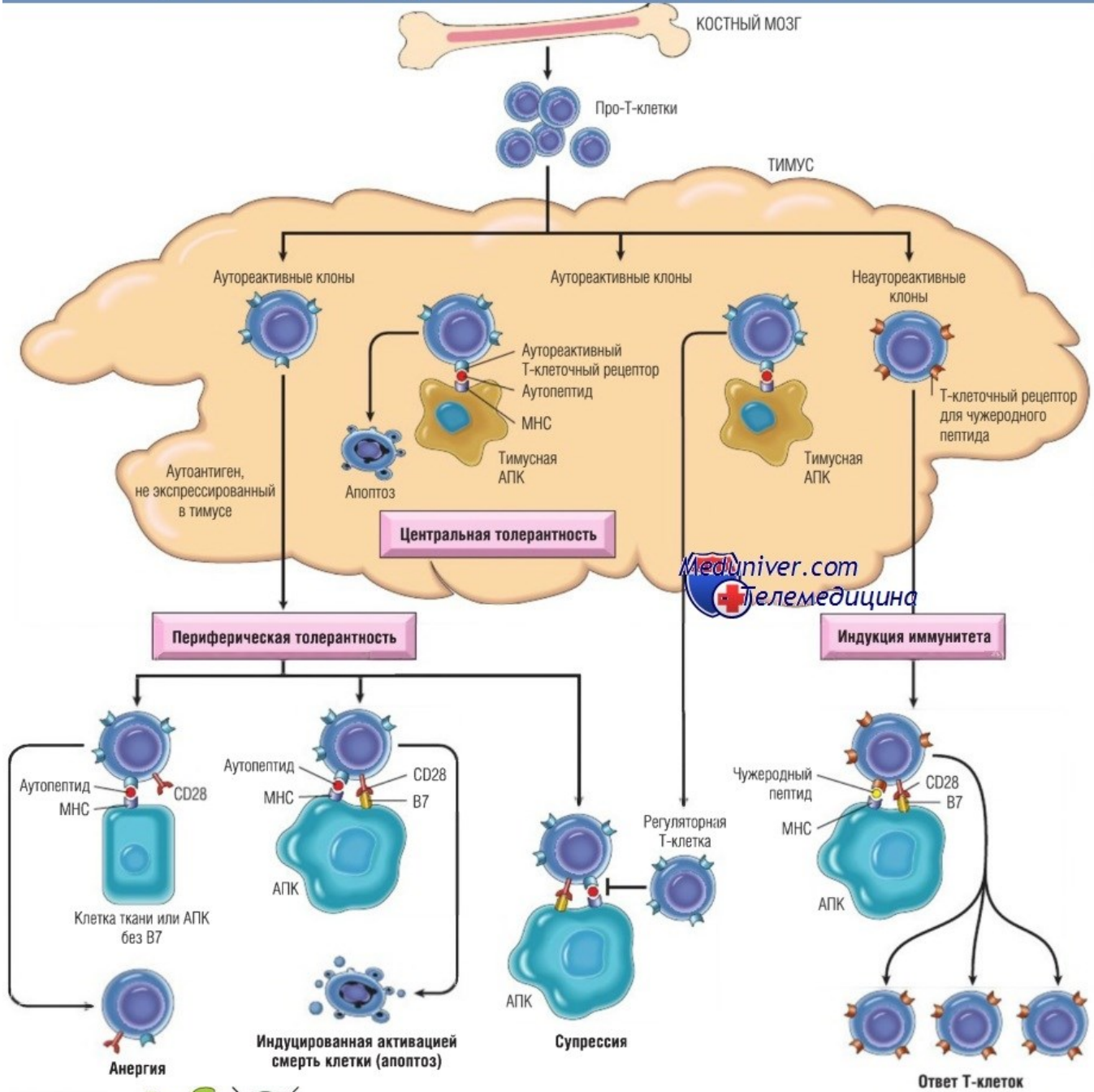
Определение понятия иммунологической толерантности

Иммунологическая толерантность – отсутствие иммунного ответа на иммуноген.

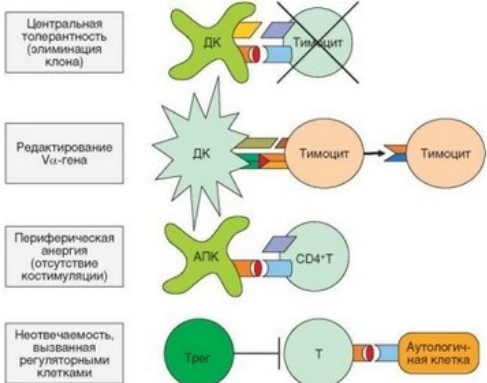
Толерогены

Чаще всего толерогенами (антигенами, индуцирующими не иммунный ответ, а развитие состояния иммунологической толерантности) являются полисахариды.

Механизмы иммунологической толерантности



Meduniver.com
Телемедицина



Классификации иммунологической толерантности

Иммунологическая толерантность классифицируется по происхождению (врождённая, или естественная – на аутоантигены, и приобретённая), по распространённости на эпитопы антигена (поливалентная и моновалентная), по зависимости от дозы толерогена (высокой дозы – при прямо пропорциональной зависимости доза/эффект, низкой дозы – при обратно пропорциональной зависимости доза/эффект).

Основные механизмы естественной ауто толерантности. Первый из представленных механизмов реализуется в основном в тимусе, три остальных – в периферическом отделе иммунной системы



Причины и механизмы развития иммунологической толерантности

Иммунологическая толерантность развивается или в результате быстрого выведения антигена в составе иммунных комплексов или в результате изменения соответствующего клона иммунокомпетентных клеток (его гибели, блокады или потери антигенраспознающих рецепторов).

Использование феномена иммунологической толерантности для решения медицинских проблем

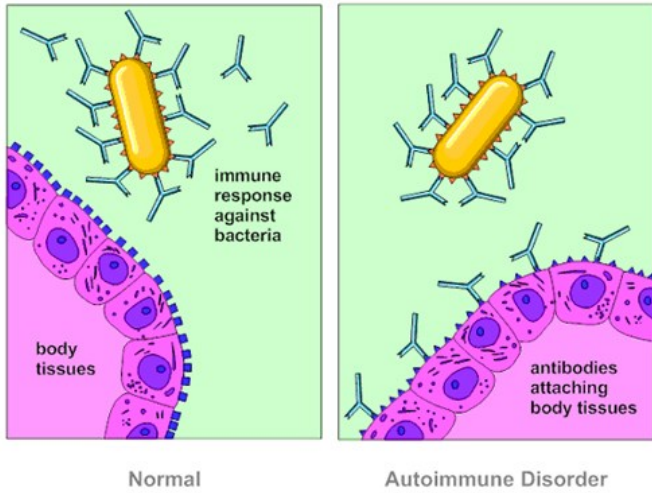
Феномен иммунологической толерантности используется в трансплантологии, а также при лечении аутоиммунных заболеваний, аллергий и других иммунопатологических состояний.

Определение понятия аутоиммунной реакции

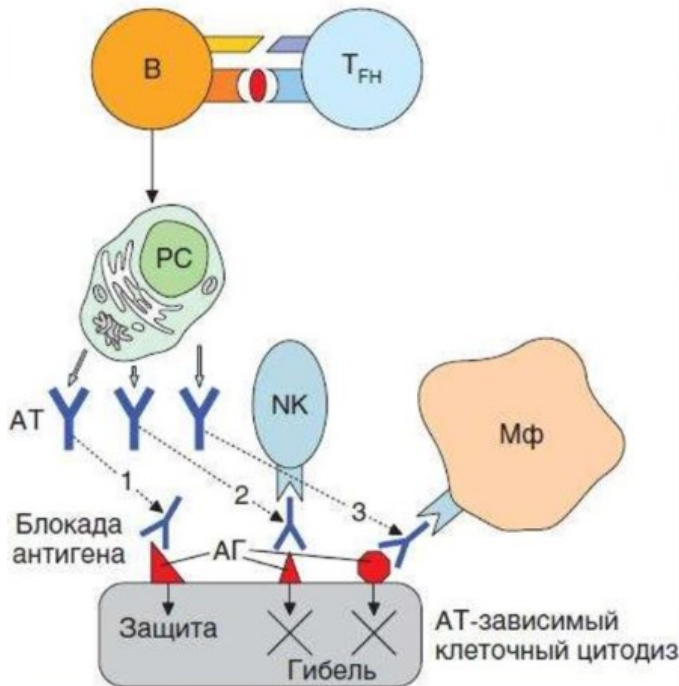
Аутоиммунная реакция – развитие иммунного ответа к аутоантигенам в результате отмены состояния естественной иммунологической толерантности.

Механизмы развития аутоиммунной реакции

Аутоиммунная реакция как осложнение инфекционного процесса, как последствие травм, при аллергической реакции II типа, при нарушениях в иммунной системе.



Рисунок, иллюстрирующий развитие аутоиммунной реакции как осложнения инфекционного процесса, когда антитела против микроорганизма реагируют со схожими с ними по специфичности антигенами собственной ткани макроорганизма



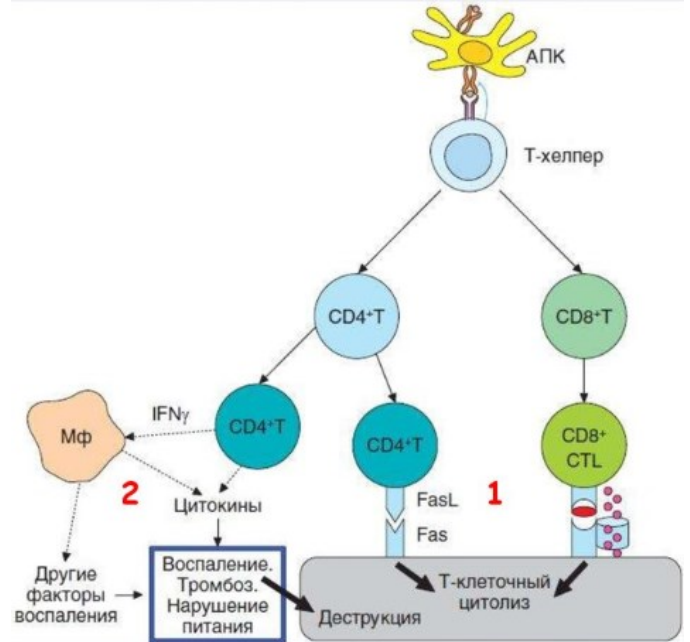
Гуморальные механизмы отторжения трансплантата: антитела могут привлекать макрофаги (3) и естественные киллеры (2) к его разрушению; более важна конкуренция антитела и T-клеток за клетки-мишени (1), хотя эту конкуренцию едва ли следует понимать буквально, поскольку B- и T-эпитопы, как правило, не совпадают

Принцип механизма отторжения трансплантата

Трансплантат отторгается вследствие распознавания иммунной системой реципиента МНС-I антигенов донора.

Виды трансплантационного иммунитета

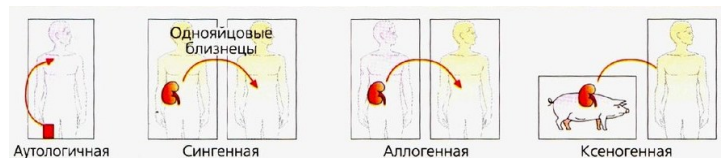
Трансплантационный иммунитет бывает как гуморальным (с формированием аллергической реакции II типа и АЗКЦТ), так и клеточным (обусловленным действием T-киллеров и T-эффекторов ГЗТ).



Клеточные механизмы отторжения трансплантата: 1 – цитолиз, осуществляемый преимущественно CD8+ и в меньшей степени CD4+ T-клетками; 2 – нарушение питания трансплантата вследствие локального воспаления

Классификация трансплантатов с учётом генетических отношений доноров и реципиентов

В зависимости от сходства генотипов донора и реципиента, трансплантаты классифицируются на аутологичные (из собственных тканей), сингенные (при идентичности генотипов), аллогенные (генотипы принадлежат одному и тому же биологическому виду) и ксеногенные (трансплантат принадлежит другому биологическому виду).



Типы трансплантации



Реакция «трансплантат против хозяина»

Развивается при пересадке иммунокомпетентных клеток (костного мозга) – в этом случае донорские ИКК начинают формировать клеточный иммунный ответ против тканей реципиента.

Методы подавления трансплантационного иммунитета

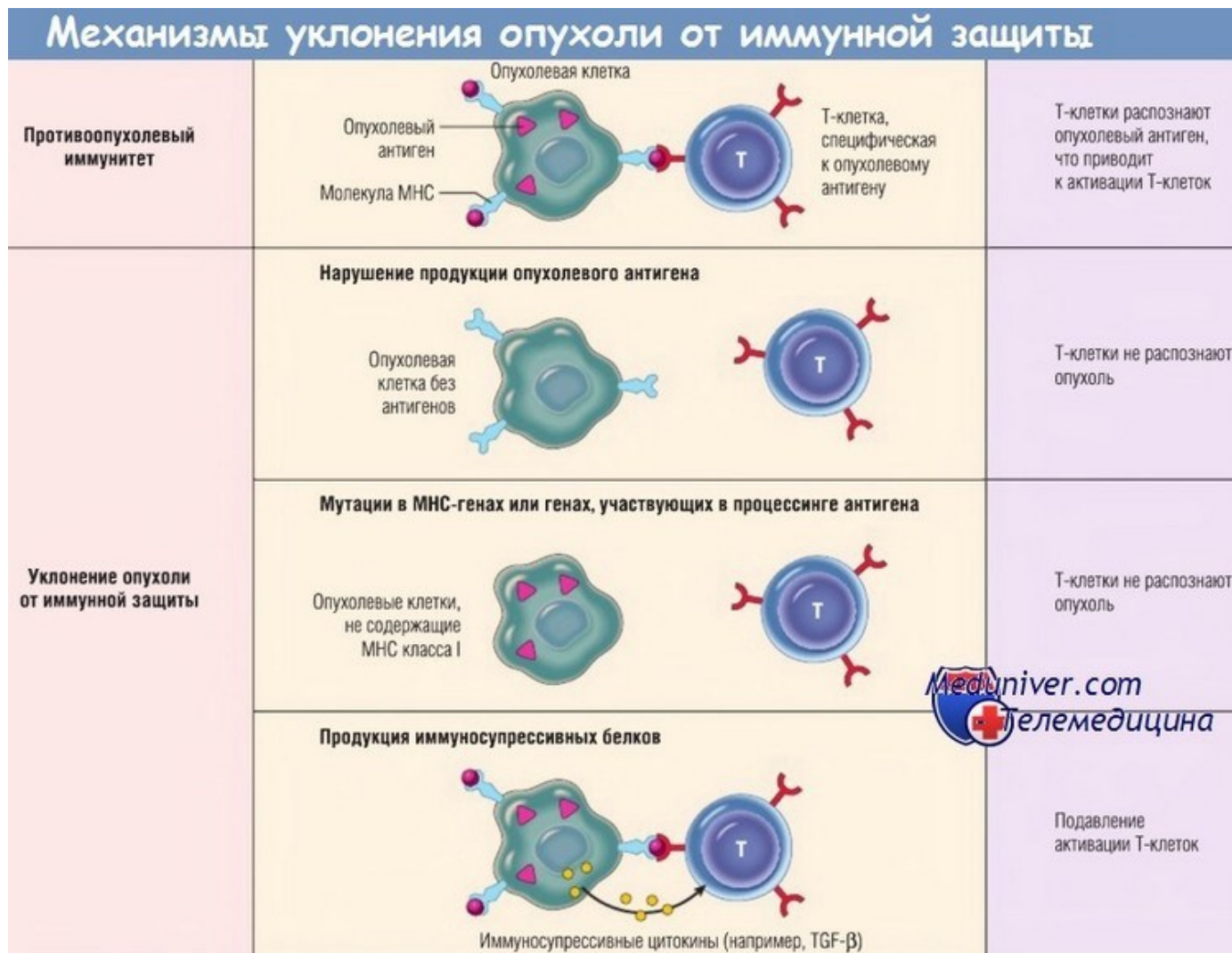
Для подавления реакции отторжения трансплантата осуществляют подбор донора по антигенам МНС, а у реципиента подавляют иммунологическую реактивность иммунодепрессантами.

Общая схема эффекторного звена противоопухолевого иммунитета

Наряду с факторами неспецифической резистентности (макрофаги, NK-клетки), против опухоли формируется иммунный ответ – как клеточный (Т-клетки, АЗКЦТ), так и гуморальный.

Общая характеристика эффекторного звена противоопухолевого иммунитета

Эффекторное звено противоопухолевого иммунитета формируют Т-лимфоциты, макрофаги и NK-клетки; антитела не оказывают прямого действия на клетки опухоли, но участвуют в процессах АЗКЦТ, направленной на опухолевые клетки.



Общая характеристика иммунитета при микозах

И микотические клетки и продукты их метаболизма являются сильными иммуногенами, обуславливающими развитие в организме больного и гуморального и клеточного иммунитета; однако, при сапрофитиях (поверхностных микозах, при которых поражаются лишь роговой слой эпидермиса и поверхность волосяного стержня) иммунный ответ, вследствие отсутствия контакта возбудителя с иммунной системой, отсутствует.

Клеточный иммунный ответ при микозах

Клеточный иммунный ответ при микозах играет основную роль и обусловлен действием ЦТЛ, а также активированных Т-хелперами фагоцитов.

Гуморальный иммунный ответ при микозах

При микозах формируется высокий титр антител, но их значение в элиминации возбудителя невелика, хотя тип антител и нарастание их титра отражают, как правило, статус и прогрессирование инфекции.

Активация комплемента при микозах

Активация комплемента (и по классическому и по альтернативному пути) при микозах играет заметную роль и может обуславливать развитие некоторых патологических реакций.



Аллергическая реакция при микозах

Аллергическая реакция при микозах развивается как по типу ГНТ, так и по типу ГЗТ.

Определение понятия «иммунодефицитное состояние» (иммунодефицит)»

Имунодефицит (иммунодефицитное состояние) – нарушение иммунного статуса вследствие дефекта иммунного ответа.

Классификация иммунодефицитов

Имунодефициты классифицируются на первичные (врождённые) и вторичные (приобретённые), которые (и первые и вторые), в свою очередь, классифицируются на гуморальные, клеточные и комбинированные.

Клинические проявления иммунодефицитных состояний

Имунодефицитные состояния клинически проявляются иммунопатологическими реакциями, органно-функциональной и органной (врождённые пороки развития) патологий.

Характеристика иммунодефицита при недостаточности фагоцитоза

При недостаточности фагоцитоза повышена опасность развития бактериальных инфекций и аллергических реакций III типа.

Характеристика иммунодефицита при недостаточности комплемента

Недостаточность комплемента приводит к развитию наследственного ангиоотёка (наследственного ангионевротического отёка), аллергическим реакциям III типа, рецидивирующим бактериальным инфекциям.

Характеристика иммунодефицита при недостаточности гуморального иммунитета

При недостаточности гуморального иммунитета развиваются дис- и агаммаглобулинемии.

Характеристика иммунодефицита при недостаточности клеточного иммунитета

Для недостаточности клеточного иммунитета характерно развитие микозов, рецидивирующих вирусных инфекций, осложнений применения живых вакцин.

Характеристика иммунодефицита при комбинированных нарушениях

При комбинированных иммунодефицитах формируется общая предрасположенность к инфекциям.

Определение понятия «клиническая иммунология»

Раздел иммунологии, занимающийся оценкой иммунного статуса организма человека – или, другими словами, раздел медицины, изучающий патологию человека в контексте нарушения функций иммунной системы.

Определение понятия «иммунный статус»

Структурное и функциональное состояние иммунной системы, описываемое клиническими и лабораторными иммунологическими показателями, которое определяет способность к иммунному ответу на конкретный антиген в конкретный момент времени.

Методы оценки иммунного статуса

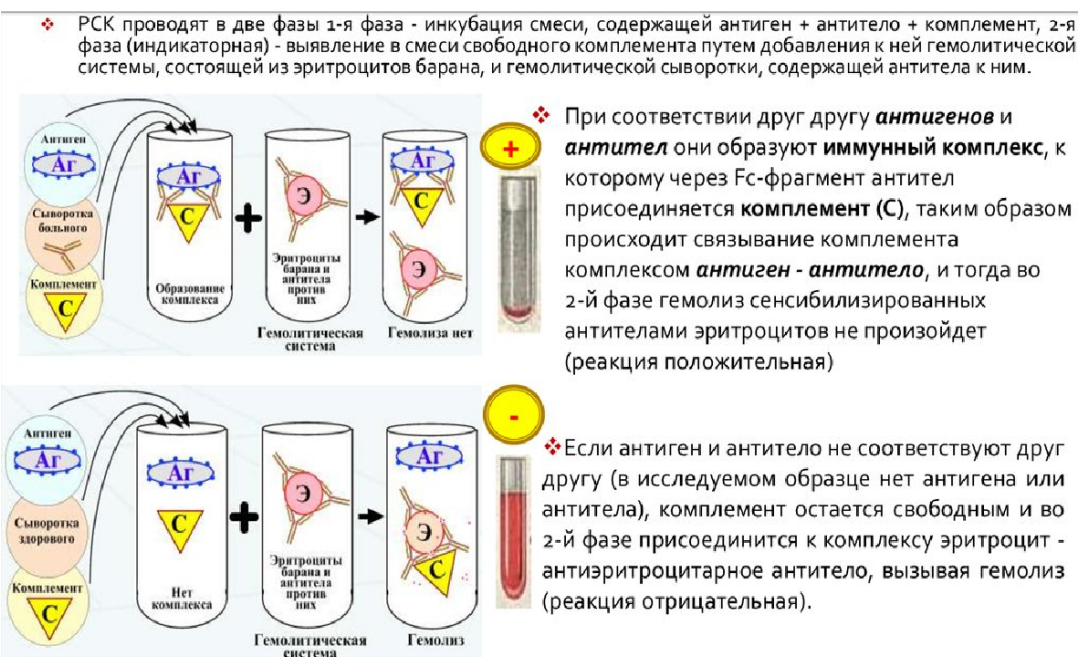
Для оценки иммунного статуса используют: данные общего клинического обследования, показатели состояния факторов неспецифической резистентности, показатели гуморального и клеточного иммунитета, а также ряд дополнительных тестов.

Определение понятия «серологическая реакция с участием комплемента»

Серологическая реакция, при протекании которой образовавшийся в её ходе иммунный комплекс приводит к активации комплемента, которая и обуславливает внешние проявления реакции.

Реакция связывания комплемента

Реакция связывания комплемента осуществляется в две фазы: во время первой фазы происходит формирование и инкубация смеси, содержащей антиген, антитело и комплемент, а во время второй (индикаторной) фазы происходит выявление в смеси свободного комплемента путём добавления к ней гемолитической системы – свободный комплемент вызывает гемолиз.



Реакция иммунного лизиса

В ходе реакции иммунного лизиса антитела образуют иммунные комплексы с поверхностными антигенами клетки (эритроцита в реакции гемолиза или бактерии в реакции бактериолиза), что приводит к активации на поверхности клетки комплемента и её комплемент-зависимому лизису.

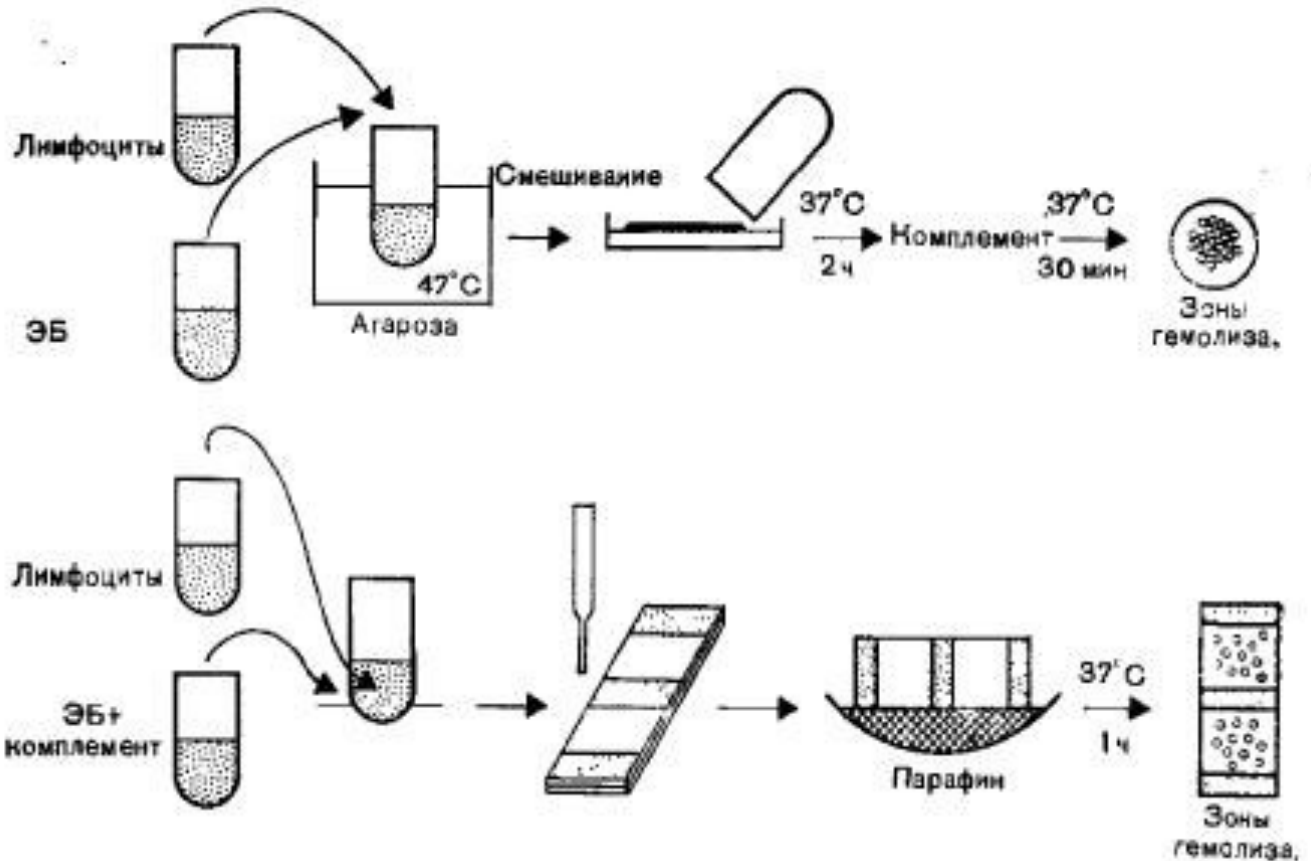


Реакция гемолиза

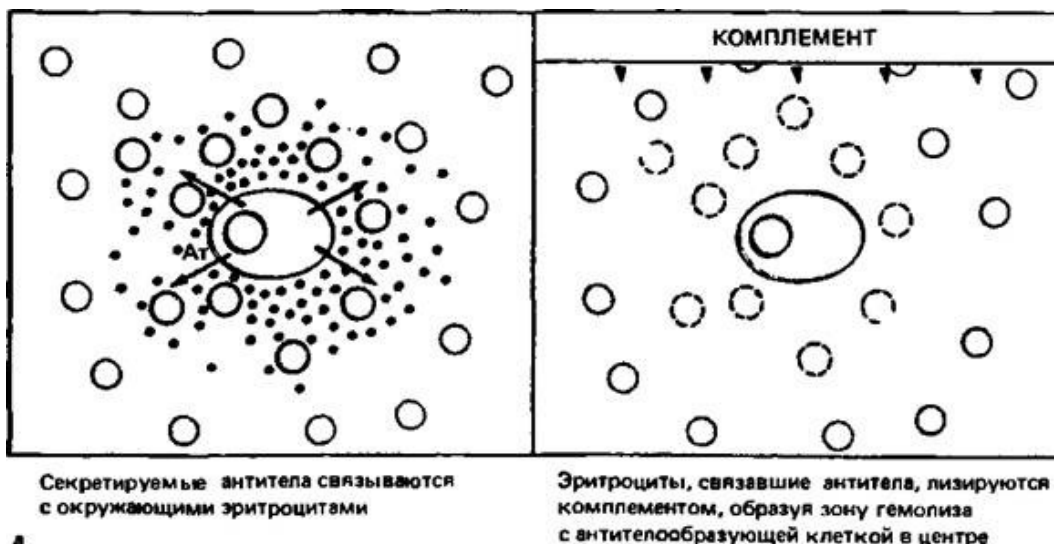
Реакция гемолиза используется для определения титра и активности комплемента, а также как индикатор для оценки РСК; реакция локального гемолиза в геле носит название реакции Эрне.

Реакция Эрне

Используется для определения числа антителообразующих клеток в лимфоидных органах; в гель вносятся эритроциты, суспензия клеток исследуемой лимфоидной ткани и комплемент – число образующихся в результате реакции зон гемолиза равно числу клеток, секретирующих гемолизины.



Рисунок, иллюстрирующий различные способы постановки реакции локального гемолиза в геле (реакции Эрне) (ЭБ—эритроциты барана)



Рисунок, иллюстрирующий принцип реакции локального гемолиза в геле (реакции Эрне)

Реакция радиального гемолиза

Используется для определения активности комплемента и гемолитической сыворотки или для выявления противовирусных антител; в первом случае в гель добавляют эритроциты барана и комплемент, а в лунку – гемолитическую сыворотку: в положительном случае вокруг лунки образуется зона гемолиза; во втором случае в гель добавляют эритроциты, нагруженные вирусным антигеном и комплемент, а в лунку – сыворотку крови больного: в положительном случае вокруг лунки формируется зона гемолиза.



- **Реакцию радиального гемолиза (РРГ)** ставят в лунках геля из агары, содержащего эритроциты барана и комплемент.
- После внесения в лунки геля гемолитической сыворотки (антител против эритроцитов барана) вокруг них, в результате радиальной диффузии антител, образуется зона гемолиза.
- Таким образом можно определить активность комплемента и гемолитической сыворотки, а также антитела в сыворотке крови у больных гриппом, краснухой, клещевым энцефалитом.
- Для этого на эритроцитах адсорбируют соответствующие антигены вируса, а в лунки геля, содержащего данные эритроциты, добавляют сыворотку крови больного. Противовирусные антитела взаимодействуют с вирусными антигенами, адсорбированными на эритроцитах, после чего к этому комплексу присоединяются компоненты комплемента, вызывая гемолиз



Пример иммунного прилипания (ИП) стафилококков к эритроциту

Реакция иммунного прилипания

В случае образования на поверхности бактериальных клеток иммунных комплексов со специфическими антителами, здесь происходит активация комплемента и образуются активные фракции С3b – поэтому создаются условия для прилипания таких бактерий к клеткам, имеющим рецепторы к С3b: эритроцитам, тромбоцитам, макрофагам.

Реакция иммобилизации

В случае добавления к подвижным бактериям специфических антител и комплемента, в положительном случае происходит обездвиживание этих бактерий.

Алгоритм усвоения практических навыков, приобретаемых на занятии

1. Постановка и учёт реакции связывания комплемента (для выявления антител)

А. Формирование тест системы.

№ пробирки/ лунки	1	2	3	4	5	6	7
назначение	опыт	положит. контроль	отрицат. контроль	контроль исп. сыворотки	контроль антигена	контроль комплемента	контроль гем. системы
1 ^й объём	исп. сыв-ка	положит. сыв-ка	отрицат. сыв-ка	исп. сыв-ка	физ. р-р	физ. р-р	физ. р-р
2 ^й объём	Ag	Ag	Ag	физ. р-р	Ag	физ. р-р	физ. р-р
3 ^й объём	С	С	С	С	С	С	физ. р-р

Примечание: первый, второй и третий объёмы равные друг другу – будь то мл, мкл или любые другие объёмные единицы (в зависимости от конкретной модификации методики постановки реакции).

термостатирование

Б. Визуализация реакции.

добавление гемсистемы (одинаковый объём во все пробирки/лунки)	гем. система	гем. система	гем. система	гем. система	гем. система	гем. система	гем. система
--	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

термостатирование

В. Учёт реакции.

наличие гемолиза	+/-	-	+	+	+	+	-
------------------	-----	---	---	---	---	---	---

T K+ K- Ks Ka Kc Khs



РСК поставлена правильно (среди контрольных лунок: в крайних нет гемолиза, в центральных есть гемолиз), положительная (в опытной лунке отсутствует гемолиз)

здесь и ниже: *T* – опыт, *K+* – положительный контроль, *K-* – отрицательный контроль, *Ks* – контроль испытуемой сыворотки, *Ka* – контроль антигена, *Kc* – контроль комплемента, *Khs* – контроль гемолитической системы

T K+ K- Ks Ka Kc Khs



РСК поставлена правильно (среди контрольных лунок: в крайних нет гемолиза, в центральных есть гемолиз), отрицательная (в опытной лунке есть гемолиз)

T K+ K- Ks Ka Kc Khs



РСК поставлена неправильно – испытуемая сыворотка обладает антикомплементарным действием; следует повторить реакцию, взяв новую сыворотку

T K+ K- Ks Ka Kc Khs



РСК поставлена неправильно – антиген обладает антикомплементарным действием; следует повторить реакцию, поменяв антиген

T K+ K- Ks Ka Kc Khs



РСК поставлена неправильно – комплемент не в состоянии вызвать гемолиз; следует повторить реакцию, поменяв комплемент

Т К+ К- Кs Ка Кс Кhs



РСК поставлена неправильно – в гемолитической системе происходит спонтанный гемолиз; следует повторить реакцию, поменяв гемолитическую систему

2. Расшифровка показателей иммунограммы

Показатель	Характеристика	
CD3	количество Т-лимфоцитов	
CD4	количество Т-хелперов	
CD8	количество ЦТЛ и др. Т-лимфоцитов CD8-субпопуляции	
CD16	количество НК-клеток	
CD19 (CD20, CD22)	количество В-лимфоцитов	
CD25	количество активированных лимфоцитов	
CD95	количество терминально активированных лимфоцитов, готовых к апоптозу	
ИРИ CD4/CD8	удельное содержание Т-хелперов среди всех Т-лимфоцитов	
ФЧ	поглощительная способность нейтрофилов	
ФИ	количество фагоцитирующих нейтрофилов (фагоцитарная активность нейтрофилов)	
СН50	количество/активность комплемента	
ЦИК	активность фагоцитов, склонность к развитию аллергии III типа	
НСТ-тест	завершённость фагоцитоза	
IgM	количество иммуноглобулинов класса М	
IgG	количество иммуноглобулинов класса G	
IgA	количество иммуноглобулинов класса А	
РБТЛ	с ФГА	пролиферативная активность Т-лимфоцитов
	с ЛПС	пролиферативная активность В-лимфоцитов
	с КонаА	пролиферативная активность Т-лимфоцитов

Расшифровка сокращений:

- CD - кластеры дифференциации (CD-молекулы)
- ИРИ - иммунорегуляторный индекс
- ФЧ - фагоцитарное число
- ФИ - фагоцитарный индекс
- СН50 - гемолитическая активность сыворотки
- ЦИК - циркулирующие иммунные комплексы
- НСТ - тест с нитросиним тетразолием
- Ig - иммуноглобулины (антитела)
- РБТЛ - реакция бласттрансформации лимфоцитов
- ФГА - фитогемагглютинин
- ЛПС - липополисахарид
- КонаА - конканавалин А

ЛФ, ПФ. Занятие № 16

Иммунопрофилактика: определение понятия

Создание специфического иммунитета для предотвращения развития инфекционного процесса.

Препараты для иммунопрофилактики

Для иммунопрофилактики используются вакцины (создают активный иммунитет) и сыворотки (создают пассивный иммунитет).

История иммунопрофилактики

Первые вакцины (живые) создал Пастер, назвавший приготовленный им препарат в честь Дженнера, разработавшего метод противооспенной прививки (от лат. vacca – корова).

Вакцины: определение термина

Препарат, содержащий антиген, и индуцирующий при введении в макроорганизм развитие против этого антигена активного иммунитета.

Общая классификация вакцин

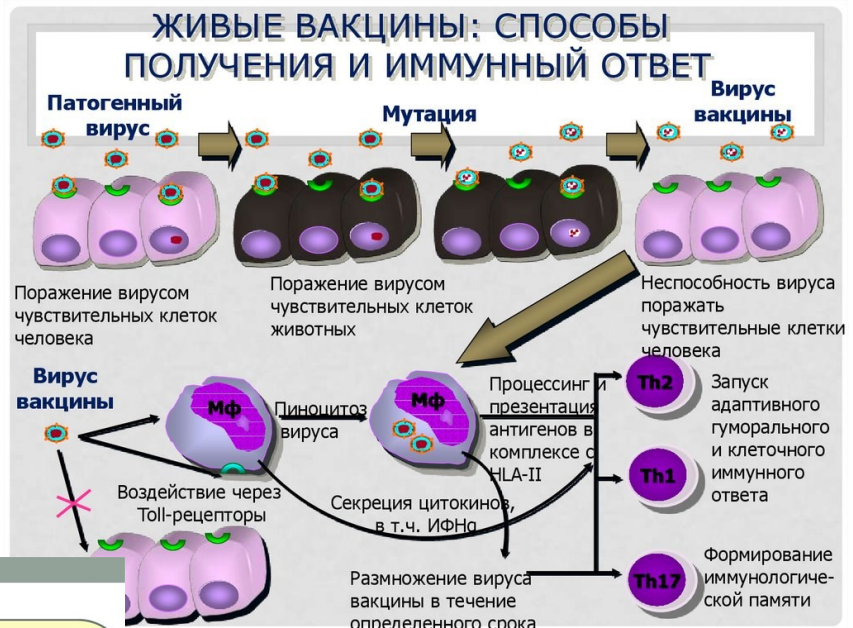
Вакцины классифицируются на следующие группы: живые (аттенуированные), убитые (инактивированные), химические, анатоксины, вакцины нового поколения (например, генно-инженерные).

Получение живых вакцин

Живые вакцины получают при отборе стойких мутантов патогенного микроорганизма, снизивших свою вирулентность, но сохранивших иммуногенность.

Общая характеристика живых вакцин

Поствакцинальный иммунитет, индуцированный живыми вакцинами, сопоставим по своей эффективности с



постинфекционным иммунитетом, но они крайне опасны при иммунодефицитах.

Получение убитых вакцин

Убитые вакцины получают, убивая патогенный микроорганизм таким образом, чтобы не произошла денатурация его антигенов.

Общая характеристика убитых вакцин

Убитые вакцины, по сравнению с живыми, более безопасны, но менее эффективны.

Живые вакцины

Дивергентные

получают на основе непатогенных штаммов микроорганизмов, имеющих общие протективные антигены с патогенными для человека возбудителями инфекционных болезней (вакцина против натуральной оспы человека - используется вирус оспы коровы, вакцина БЦЖ - используются микобактерии бычьего типа)

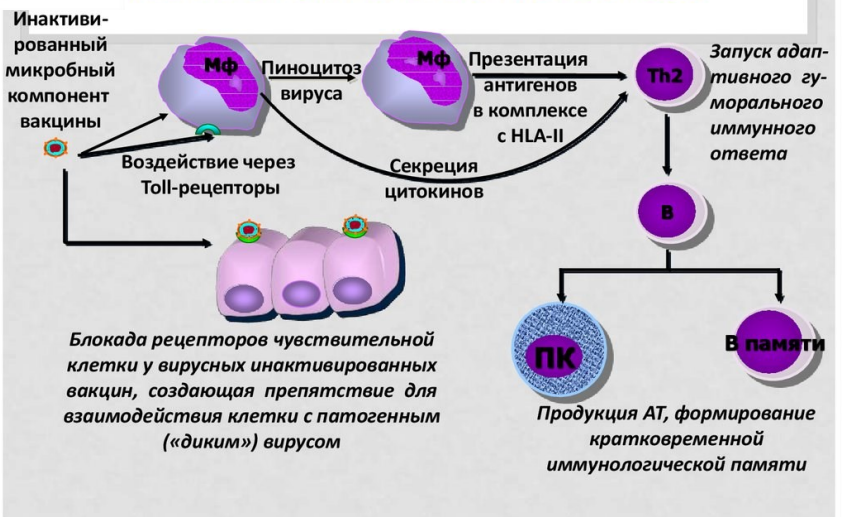
Рекомбинантные

на основе получения непатогенных для человека рекомбинантных штаммов, несущих гены протективных антигенов патогенных микробов и способных при введении в организм человека размножаться, синтезировать специфический антиген и создавать иммунитет к патогенному возбудителю.

Аттенуированные

содержат штаммы патогенных м/о, утративших вирулентность

ИНАКТИВИРОВАННЫЕ ВАКЦИНЫ: ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО ОТВЕТА



Получение химических вакцин

Химические вакцины получают, извлекая из микроорганизмов физико-химическими методами протективные антигены (т.е. такие антигены, которые индуцируют развитие защитного иммунитета).

Общая характеристика химических вакцин

Химические вакцины наиболее безопасны; эффективность этих вакцин зависит от конкретного препарата.

Получение анатоксинов

Каждый анатоксин получают по своей методике, к примеру, дифтерийный анатоксин получают, обрабаты-

вая дифтерийный токсин 0,3% формалином при 37°C в течение 30 дней – в результате анатоксин практически теряет свою ядовитость, сохраняя при этом иммуногенность.

Общая характеристика анатоксинов

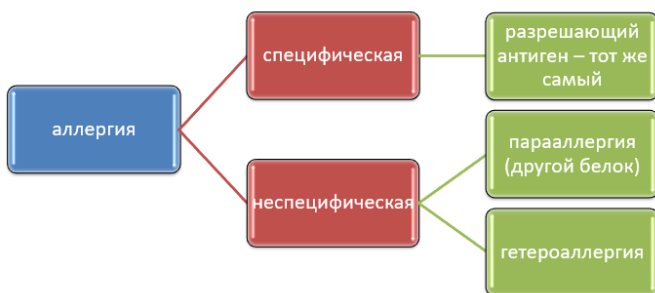
Анатоксины, в целом, самые эффективные вакцины.

Различные варианты вакцинных препаратов

Моновакцины содержат антигены одного вида микроорганизма, поливакцины содержат антигены нескольких видов микроорганизмов, моновалентные вакцины содержат антигены одного серовара конкретного вида микроорганизма, поливалентные вакцины содержат антигены нескольких сероваров конкретного вида микроорганизма, комплексные (конъюгированные) вакцины содержат нужный антиген в виде эпитопа, конъюгированного с анатоксином, комбинированные вакцины содержат в себе вакцины разных групп общей классификации вакцин.

Применение вакцин

Вакцины применяют при вакцинопрофилактике и при вакцинотерапии; в плановой вакцинопрофилактике используют вакцины против гепатита В, БЦЖ (против туберкулёза), полиомиелитную, коревую, паротитную, против краснухи, АКДС (против коклюша, дифтерии и столбняка), остальные вакцины применяют по эпидпоказаниям; при вакцинотерапии используют убитые вакцины.



Схема, иллюстрирующая различные виды аллергии (в том числе, на вакцины) в зависимости от природы сенсibilизирующего и разрешающего (вызывающего у сенсibilизированного организма клиническую симптоматику) факторов. Специфическая аллергия развивается при идентичности сенсibilизирующего и разрешающего антигена. Неспецифическая аллергия развивается в случае, когда сенсibilизация вызывается одним антигеном, а разрешающим фактором служит совершенно другой антиген. При парааллергии – это другой белок; при гетероаллергии сенсibilизирующим фактором может быть соединение белковой природы, а разрешающим – какой-либо физический фактор (охлаждение, облучение и т.п.).

Схема вакцинации

Вакцинация может осуществляться однократным или многократным введением вакцины; во втором случае сначала осуществляется первичная вакцинация, создающая граундимунитет, а затем ревакцинация бустерными (уменьшенными) дозами вакцины.

Показания для серопрфилактики

Лечебно-профилактические сыворотки используют с профилактической целью в двух случаях: при отсутствии соответствующего вакцинного препарата, при недостатке времени для создания активного иммунитета.

Иммунотерапия: общее понятие

Помощь организму человека в формировании адекватного иммунного ответа с целью обратного развития инфекционного процесса.

Препараты для иммунотерапии

Для иммунотерапии используются вакцины (вакцинотерапия), лечебно-профилактические сыворотки (серотерапия), иммуномодуляторы.

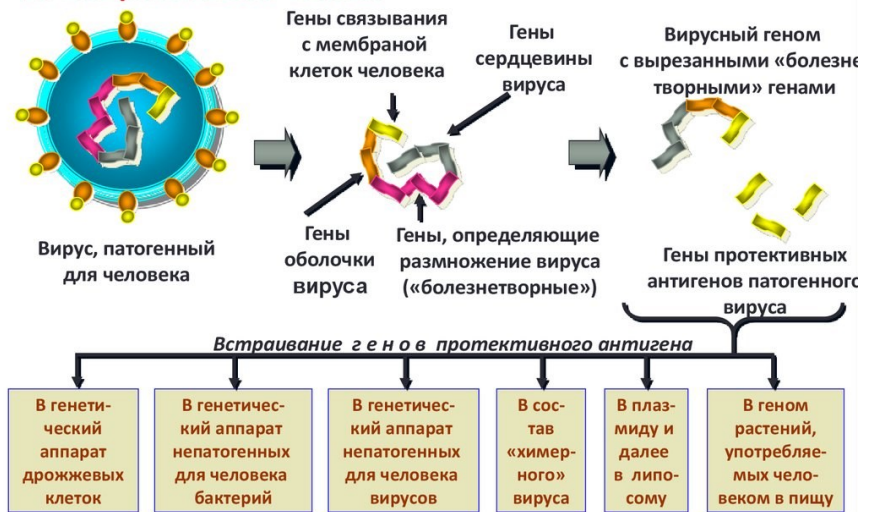
Вакцинотерапия

Вакцинотерапию применяют при хронических инфекциях, лечебные вакцины – убитые, их применение сопровождается иммуностимулирующим и десенсibilизирующим эффектами.

Лечебные вакцины

Существуют следующие лечебные вакцины: гонококковая, бруцеллезная, туляремийная, дизентерийная, а также Vi-тифин (Vi-антиген возбудителя брюшного тифа, который применяется для предотвращения развития

ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ВАКЦИНЫ: ПРИНЦИПЫ ПОЛУЧЕНИЯ



Требования к вакцинам

Вакцины должны обладать высокой иммуногенностью, ареактивностью и оказывать минимальное сенсibilизирующее действие на макроорганизм.

Осложнения вакцинации

Введение вакцин может осложниться развитием аутоиммунной реакции, развитием органо-тканевой патологии, а у детей первых 10 лет жизни возможна гетероаллергия.

Название вакцины (прививки)	К какому заболеванию вырабатывается иммунитет...	Период вакцинации	Место введения вакцины
ВГВ	вирусный гепатит В	новорожденные дети в первые 12 часов жизни, а также малыши в возрасте 1 и 5 месяцев	детям первых лет жизни - внутримышечно в верхненаружную поверхность средней части бедра (лицам других возрастов - внутримышечно в дельтовидную мышцу)
БЦЖ-М	туберкулез	малыши на 3-5 день жизни	строго внутрикожно на границе верхней и средней трети наружной поверхности левого плеча
АКДС (комбинированная вакцина)	дифтерия, столбняк, коклюш	дети в возрасте 3,4,5 и 18 месяцев (полтора года)	вводится внутримышечно в переднюю боковую поверхность бедра
ИПВ	полиомиелит	дети в возрасте 3,4,5 месяцев и в 7 лет	детям до двух лет жизни - внутримышечно в верхненаружную поверхность средней части бедра детям старше двух лет жизни - внутримышечно в дельтовидную мышцу
КПК	корь, эпидемический паротит, краснуха	дети в возрасте 12 месяцев и 6 лет	вводится подкожно, допускается внутримышечное введение
АДС АДС-М	дифтерия и столбняк	дети в возрасте 6 лет, 16 лет, взрослые в 26 лет и каждые последующие 10 лет до достижения 66 лет	АДС - вводится внутримышечно в передненаружную часть бедра АДС-М - внутримышечно в передненаружную часть бедра или глубоко подкожно (подросткам и взрослым) в подлопаточную область
АД-М	дифтерия	дети в возрасте 11 лет	вводится внутримышечно в переднюю боковую поверхность бедра
	грипп	дети от 6 месяцев и взрослые	детям старше трех лет, подросткам и взрослым - внутримышечно или глубоко подкожно в верхнюю треть наружной поверхности плеча (в дельтовидную мышцу) детям до трех лет - внутримышечно в переднебоковую поверхность бедра

*Национальный календарь прививок Республики Беларусь
(<http://minzdrav.gov.by/ru/dlya-belorusskikh-grazhdan/vaktsinatsiya/natsionalnyy-kalendar-privivok.php>)*

бактерионосительства); из остальных видов бактерий можно готовить аутовакцины (вакцины, получаемые из штамма, выделенного от конкретного больного, которые используют для лечения только этого больного).

Иммунопрепараты для создания пассивного иммунитета

На практике прибегают к созданию пассивного гуморального иммунитета, для чего используют лечебно-профилактические сыворотки и иммуноглобулины (гамма-глобулины).

Получение лечебно-профилактических сывороток и иммуноглобулинов

Лечебно-профилактические сыворотки представляют собой иммунные сыворотки (т.е. содержат повышенную концентрацию специфических антител), иммуноглобулины получают из лечебно-профилактических сывороток путём удаления из них максимально возможного количества балластных веществ; все препараты для серотерапии бывают гетерологичные (получаемые из лошадиной сыворотки) и гомологичные, которые, в свою очередь подразделяются на донорские и плацентарные.

Нормальный человеческий иммуноглобулин

Гомологичный иммуноглобулин, получаемый из плацентарной сыворотки или сыворотки обычных (специально не иммунизированных доноров) и содержащий гамма-глобулиновую фракцию (другими словами – набор антител) здорового взрослого человека.

Осложнения после применения чужеродного белка (вакцинального, сывороточного)

Применение чужеродного белка (вакцинального или сывороточного) может осложняться развитием острых лихорадочных состояний, сывороточной болезни, анафилаксии.

Правила применения вакцин и лечебно-профилактических сывороток

Так как применение препаратов, содержащих чужеродный белок, может привести к развитию анафилактической реакции, то перед их введением следует проводить определение сенсibilизации к вводимому препарату путём постановки кожно-аллергической пробы (которая, особенно у детей, должна предваряться накожной пробой), а в случае выявления такой сенсibilизации – осуществлять специфическую десенсibilизацию дробным, в возрастающих количествах, введением препарата.

Иммуномодуляторы

Вещества, нормализующие деятельность иммунной системы (чаще всего используются для её стимуляции), классифицируются на эндогенные (цитокины и интерфероны) и экзогенные (синтетические и природные – например, вакцины).

Иммунитет при старении

При старении развивается инволюция тимуса (начинается уже в период полового созревания), что – в результате снижения выработки тимических гормонов – приводит к замедлению созревания Т-лимфоцитов, как результат – снижению общего количества и функциональной активности последних, что в свою очередь приводит к снижению клеточного иммунитета в совокупности с умеренным снижением гуморального иммунитета и развитием аутоиммунных расстройств.

Причины развития в организме матери иммунологической толерантности к тканям плода

В организме матери к тканям плода развивается иммунологическая толерантность вследствие: низкого содержания в клетках трофобласта антигенов МНС, наличия плацентарного барьера, синтеза факторов, подавляющих реакцию отторжения, супрессорного действия Т-лимфоцитов плода на ЦТЛ матери.

Особенности иммунитета новорождённых

Иммунитет новорождённого характеризуется сниженной активностью системы комплемента, ослабленным фагоцитозом, низкой активностью иммунокомпетентных клеток и сниженной продукцией цитокинов и интерферонов.

Характеристика критических периодов формирования иммунной системы

В формировании полноценной иммунной системы организма человека выделяют четыре критических периода: первый месяц жизни (наличествуют особенности иммунитета новорождённого – повышена восприимчивость не только к патогенным, но и ко многим условно-патогенным микроорганизмам), 3-6 месяцы жизни (ослабление пассивного материнского иммунитета – выявляются наследственные иммунодефициты), второй год жизни (формируется способность к полноценному вторичному иммунитету, но сохраняется слабая активность местного иммунитета – склонность к повторным инфекциям дыхательных путей, проявляются иммунопатологические диатезы, иммунокомплексные болезни), 4-6 годы жизни (понижено содержание IgA и повышен IgE на фоне нормализовавшегося содержания иммуноглобулинов других классов – выявляются поздние иммунодефициты), подростковый возраст (подавление клеточного и стимуляция гуморального иммунитета – новый подъём частоты аутоиммунных, воспалительных и лимфопролиферативных заболеваний).

Общая характеристика серологических реакций с использованием меченых антител или антигенов

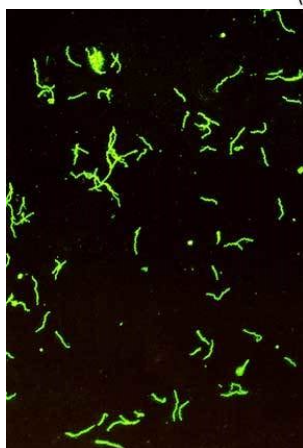
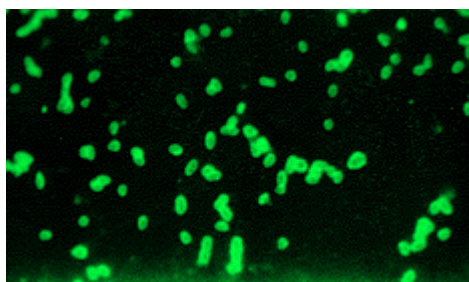
Эти серологические реакции отличаются друг от друга используемой меткой, прибором для регистрации и регистрируемым в положительном случае эффектом: РИФ (ФИТЦ и люминесцентный микроскоп – свечение), ИФА (фермент и спектрофотометр – изменение цвета реакционной смеси), РИА (радионуклиды и счётчик радиоактивности – повышение радиоактивности реакционной смеси), ИЭМ (ферритин и электронный микроскоп – повышение контрастности вирусной частицы при электронной микроскопии).

РИФ

Реакция иммунофлюоресценции может осуществляться двумя методами постановки: прямой РИФ (используется меченая диагностическая сыворотка) и непрямой РИФ (используется диагностическая сыворотка и меченая антиглобулиновая сыворотка).

Прямой метод РИФ - непосредственное соединение антигена с меченым **флуоресцентным красителем** антителом.

Непрямой метод (РНИФ) – 1) образование комплекса антиген-антитело, 2) выявлении этого комплекса путем обработки его меченым **флуоресцентным красителем** антигаммаглобулином (АТ к АТ).



Препарат риккетсий, окрашенный с помощью реакции иммунофлюоресценции (РИФ). Специфическое свечение периферии бактериальных клеток.



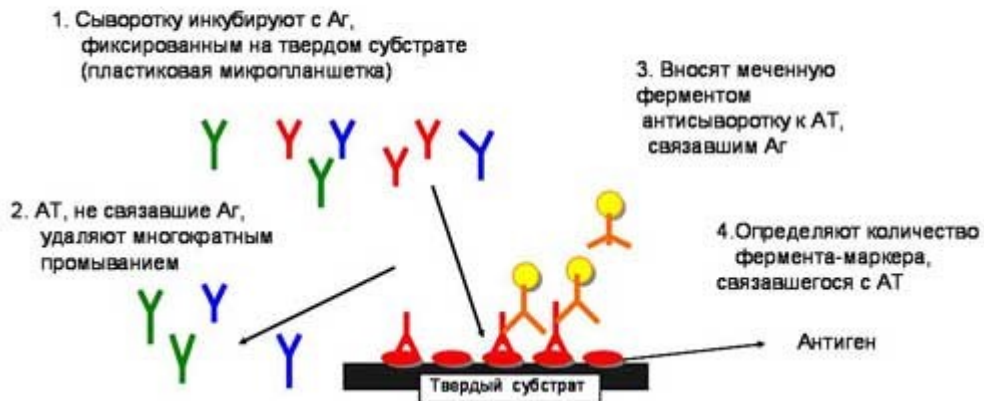
MyShared

Обнаружение и идентификация возбудителя сифилиса (*Treponema pallidum*) с помощью РИФ

ИФА

Наиболее распространён твёрдофазный иммуноферментный анализ, когда или известные антигены (для выявления антител) или антитела диагностической сыворотки (при идентификации антигена) сорбированы на твёрдом носителе (например, в лунках микропанелей из полистирола); в качестве метки чаще всего используется пероксидаза; при идентификации антител, например, проводят следующие этапы: внесение исследуемой сыворотки – термостатирование – промывка – внесение антиглобулиновой сыворотки, меченой ферментом – термостатирование – промывка – внесение субстрата для действия фермента и индикатора продукта реакции, ферментируемой меткой – учёт изменения цвета реакционной смеси.

Прямой твердофазный ИФА (схема)



РИА

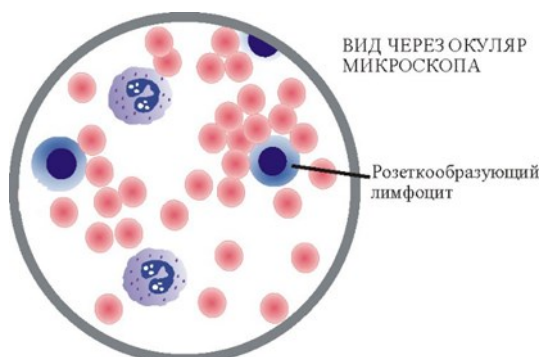
Проведение аналогично ИФА; метод представляет определённую экологическую опасность.



Макропланшет с проведённым ИФА

Алгоритм усвоения практических навыков, приобретаемых на занятии

Учёт реакции иммунофенотипирования лимфоцитов

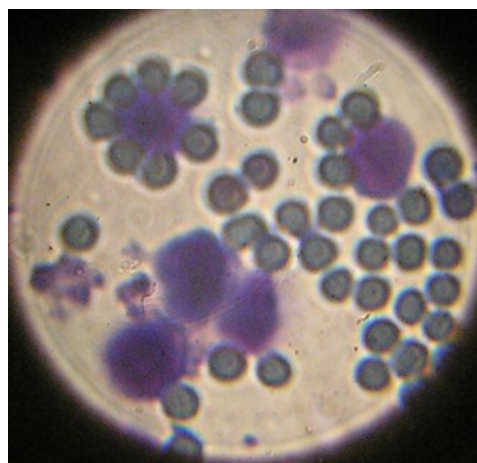


На рисунке розеткообразующий лимфоцит отмечен стрелкой, нерозеткообразующий – слева.

А. С помощью розеткообразования.

1. Кровь обрабатывается моноклональным антительным диагностикумом к определяемой CD-молекуле.
2. При микроскопии мазка подсчитывается количество лимфоцитов, на которых адсорбированы три и более эритроцита.
3. Такие лимфоциты являются носителями определяемой CD-молекулы.

На фотографии: сверху слева и сверху справа – два розеткообразующих лимфоцита, в самом верху – нерозеткообразующий лимфоцит, ниже центра – группа из трёх лимфоцитов, один из которых розеткообразующий.



Б. С помощью проточной цитометрии.

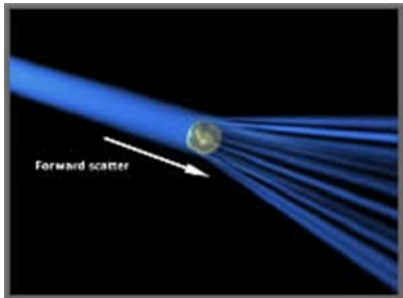
Принцип метода.

Основан на регистрации флюоресценции и светорассеяния от каждой отдельно взятой клетки в клеточной суспензии. Суспензия клеток под давлением подается в проточную ячейку, где за счет разности давлений между образцом и обтекающей жидкостью клетки, находясь в ламинарном потоке жидкости, выстраиваются в цепочку друг за другом (т.н. гидродинамическое фокусирование).

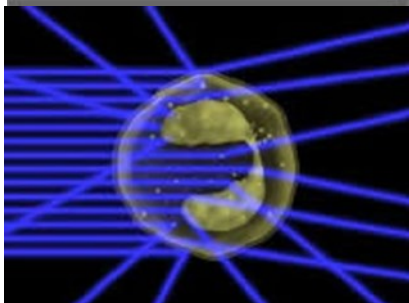


Клетки одна за другой проходят через лазерный луч, а высокочувствительные детекторы, расположенные вокруг проточной ячейки регистрируют флюоресценцию и рассеянное лазерное излучение каждой клетки. Полученный сигнал передается в компьютер, обрабатывается, и полученные данные отображаются в виде различных графиков и гистограмм.

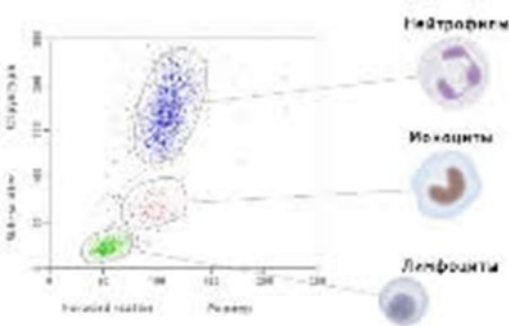
Параметры, клеток регистрируемые при помощи проточного цитометра.



Прямое (малоугловое) светорассеяние - forward scatter. Детектор прямого светорассеяния располагается по ходу лазерного луча за проточной ячейкой и регистрирует излучение лазера, которое рассеивается под углами 2-19 градусов. Интенсивность рассеянного под малым углом света пропорциональна размеру клетки. Более крупные клетки рассеивают свет сильнее мелких.



Боковое светорассеяние - side scatter. Внутреннее содержимое клеток оптически неоднородно. Луч лазера, проходя сквозь клетку, многократно преломляется и рассеивается во все стороны. Регистрация этого излучения позволяет судить о сложности внутреннего строения клетки (соотношение ядро/цитоплазма, наличие гранул, других внутриклеточных включений). Комбинация бокового и прямого светорассеяния позволяет судить о морфологии клетки в целом, выделять различные популяции клеток (лимфоциты, моноциты, гранулоциты) для дальнейшего анализа.



Регистрация флюоресценции. Моно-клональные антитела диагностической сыворотки (против конкретной CD-молекулы) конъюгируются с флюоресцентной меткой. Прибор регистрирует флюоресценцию каждой проходящей через лазерный луч клетки.

Полученные данные обрабатываются компьютером и отображаются в виде одномерных гистограмм или двух- и трехмерных точечных или плотностных графиков.

Результат фенотипирования лимфоцитов

Наличие маркера(-ов) – обозначается символом « ⁺ »	Какая это клетка
CD3 ⁺	Т-лимфоцит
CD3 ⁺ CD4 ⁺	Т-хелпер
CD3 ⁺ CD25 ⁺	активированный Т-лимфоцит
CD3 ⁺ CD8 ⁺	цитотоксический лимфоцит (Т-киллер)
CD19 ⁺	В-лимфоцит
CD19 ⁺ CD25 ⁺	активированный В-лимфоцит
CD16 ⁺	НК-клетка
CD3 ⁺ CD95 ⁺	терминально активированный Т-лимфоцит, готовый к апоптозу
CD19 ⁺ CD95 ⁺	терминально активированный В-лимфоцит, готовый к апоптозу